

**Metioniinilisän vaikutus maitotuotokseen ja
valkuaisen hyväksikäyttöön härkäpapusäilörehun korvatesa
nurmisäilörehua lypsylehmien ruokinnassa**

Hilkka Koskikallio
Maisterintutkielma
Helsingin yliopisto
Maataloustieteiden osasto
Kotieläinten ravitsemustiede
2020

TIIVISTELMÄ

HELSINGIN YLIOPISTO — HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Maatalous-metsätieteellinen tiedekunta		Osasto — Sektion — Department Maataloustieteiden osasto
Tekijä — Författare — Author Hilkka Koskikallio		
Työn nimi — Arbetets titel — Title Metioniinilisän vaikutus maitotuotokseen ja valkuaisen hyväksikäyttöön härkäpapusäilörehun korvatessa nurmisäilörehua lypsylehmien ruokinnassa		
Oppiaine — Läroämne — Subject Kotieläinten ravitsemustiede		
Työn laji — Arbetets art — Level Maisterintutkielma	Aika — Datum — Month and year Toukokuu 2020	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 52 s.
Tiivistelmä — Referent - Abstract <p>Härkäpavun (<i>Vicia faba</i>) viljely ja käyttö rehuna lisää tilan valkuaisomavaraisuutta. Biologisen typensidontan ansiosta härkäpapu sitoo ilmakehän tyypeä maaperään ja, sitä kautta sillä on hyvä esikasviarvo viljelykierrossa. Se on kiinnostava vaihtoehto nautojen ruokintaan suuren biomassantuottopotentiaalin ja suuren raakavalkuaispitoisuuden ansiosta. Härkäpavun puutteita märehitjöiden rehukäytössä ovat valkuaisen suuri pötsihajoavuus ja valkuaisen niukka metioniinipitoisuus. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli selvittää nurmisäilörehun osittaista korvaamista härkäpapusäilörehulla, ja sen vaikutuksia maitotuotokseen, maitorauhasen aminohappoaineenvaihduntaan sekä rehuvalkuaisen hyväksikäyttöön. Lisäksi tutkittiin voiko pötsisuojaattu metioniinilisä parantaa härkäpapuravun valkuaisen hyväksikäyttöä maidontuotannossa.</p> <p>Tutkimus toteutettiin toistettuna 4 x 4 latinalaisena neliönä Helsingin yliopiston Viikin opetus- ja tutkimus-tilan navetassa 28.9.-20.12.2019. Kokeessa oli 8 ayrshire -rotuista lypsylehmää. Tutkimuksessa oli faktoriaalinen 2 x 2 koeasetelma, jonka tutkittavina tekijöinä olivat säilörehun kasvilaji ja härkäpapuravun valkuaisen täydennys pötsisuojaatulla metioniinilla. Koeruokinnat pohjautuivat 1. sadon timotei-nurminatasäilörehuun (<i>Phleum pratense</i> ja <i>Schedonorus pratensis</i>, Nurmi, D-arvo 664 g/kg ka) ja seokseen, jossa 2/3 timotei-nurminatasäilörehun kuiva-aineesta korvattiin härkäpapusäilörehulla (HP, D-arvo 593 g/kg ka). Väkirehun osuus koeseosrehujen kuiva-aineesta oli 40 % ja se koostui ohrasta, kaurasta, härkäpavusta sekä kivennäisestä. Seosrehuruokinta oli vapaata. Ohutsuolesta imeytyvän metioniinilisän määrä oli koeruokinnissa 0 tai 20 g/vrk. Metioniini annettiin yhdessä melassileikkeen (1 kg/vrk) kanssa lypsyjen yhteydessä.</p> <p>Kuiva-aineen syönti lisääntyi HP-ruokinnassa verrattuna Nurmi-ruokintaan. Pötsisuojaattu metioniini ei vaikuttanut kuiva-aineen syöntiin. Pötsisuojaattu metioniinilisä vähensi maitotuotosta Nurmi-ruokinnassa lähes 2 kg/vrk, mutta HP-ruokinnassa maitotuotos pysyi samana. Metioniinilisän vaikutuksesta maidon laktoosipitoisuus väheni ja valkuaispitoisuus (sekä suuntaa-antavasti rasvapitoisuus) lisääntyi säilörehun kasvilajista riippumatta. Energiakorjattu maitotuotos lisääntyikin HP-ruokinnassa metioniinilisän vaikutuksesta, mutta väheni Nurmi-ruokinnassa. Maidon ureapitoisuus oli HP-ruokinnassa suurempi kuin Nurmi-ruokinnassa. Metioniinilisä tehosti rehutypen hyväksikäyttöä maitovalkuaiseksi HP-ruokinnassa ja heikensi sitä Nurmi-ruokinnassa.</p> <p>Valtimoplasman glukoosipitoisuus väheni Nurmi-ruokinnassa ja lisääntyi HP-ruokinnassa metioniinilisän myötä. Metioniinilisä lisäsi rikkipitoisten aminohappojen (Met, Cys) ja tauriinin pitoisuutta plasmassa. Rikkipitoisten aminohappojen pitoisuus oli suurempi Nurmi-ruokinnassa verrattuna HP-ruokintoihin.</p> <p>Tutkimuksen perusteella osa nurmisäilörehusta voidaan korvata härkäpapusäilörehulla ilman, että maitotuotos heikkenee. Metioniinilisä oli tarpeeton Nurmi-ruokinnassa ja aiheutti negatiivisia tuotosvasteita. Metioniinilisällä voi kuitenkin olla positiivisia vaikutuksia maidon koostumukseen ja rehuvalkuaisen hyväksikäyttöön ruokinnassa, joka sisältää härkäpapua sekä säilörehuna että valkuaisrehuna.</p>		
Avainsanat — Nyckelord — Keywords härkäpapu, härkäpapusäilörehu, metioniini, lypsykarja, typen hyväksikäyttö		
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Maataloustieteiden osasto		
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Työtä ohjasivat yliopistotutkija Anni Halmemies-Beauchet-Filleau ja professori Aila Vanhatalo		

ABSTRACT

HELSINGIN YLIOPISTO — HELSINGFORS UNIVERSITET — UNIVERSITY OF HELSINKI

Tiedekunta/Osasto — Fakultet/Sektion — Faculty Faculty of Agriculture and Forestry		Osasto — Sektion — Department Department of Agricultural Sciences
Tekijä — Författare — Author Hilkka Koskikallio		
Työn nimi — Arbetets titel — Title The effects of methionine supplementation and replacing part of grass silage with faba bean silage on the lactational performance and nitrogen utilization in dairy cows		
Oppiaine — Läroämne — Subject Animal nutrition		
Työn laji — Arbetets art — Level Master's thesis	Aika — Datum — Month and year May 2020	Sivumäärä — Sidoantal — Number of pages 52 p.
Tiivistelmä — Referat — Abstract <p>Cultivation of faba bean (<i>Vicia faba</i>) and including it in dairy cows' feeding could improve our degree of protein self-sufficiency. Because of faba beans' ability to biological nitrogen fixation it is good preceding crop in crop rotation. Faba bean is an interesting option to cattle feeding because of its major biomass production and high protein concentration. Low methionine content and high rumen degradation are the disadvantages of faba bean protein in the ruminant feeding. This study was conducted to investigate the effect of replacing part of grass silage with faba bean silage on the milk production, mammary gland amino acid metabolism and nitrogen utilization of dairy cows. Furthermore, we investigated if it is possible to improve faba bean protein utilization in milk production with rumen protected methionine (RPM).</p> <p>The experiment was carried out at the University of Helsinki research farm in Viikki on 28.9.-20.12.2019 and the experimental design was replicated 4 x 4 Latin square. Eight Finnish Ayrshire cows participated in this experiment. Experimental design was factorial 2 x 2, where silage plant species and methionine supplement were the factors to be examined. Experimental diets included grass silage (<i>Phleum pratense</i> and <i>Schedonorus pratensis</i>, GS; D-value 664 g/kg DM) or silage mixture where two thirds of grass silage dry matter was replaced by faba bean silage (FB; D-value 593 g/kg DM). Total mixed ration's concentrate percentage was 40 % in dry matter and concentrate mixture contained barley, oats, faba bean and minerals. The total mixed rations were offered <i>ad libitum</i>. Methionine supplementation in diets were 0 or 20 g/d absorbed in the small intestine. RPM was offered with 1 kg/d molassed sugar beet pulp during milkings.</p> <p>Dry matter intake (DMI) increased with FB-feeding compared to GS-feeding. Rumen protected methionine did not affect DMI. However, milk production decreased almost 2 kg/d in GS-feeding with RPM, but it was not affected in FB-feeding. Milk lactose concentration decreased, and protein concentration increased when methionine was included in the diets. Also, fat concentration tended to increase. Energy corrected milk production increased in FB-feeding but decreased in GS-feeding when RPM was added. Milk urea concentration was higher in FB-diets compared to GS-diets. RPM enhanced feed nitrogen utilization to milk protein in FB-feeding and reduced it in GS-feeding.</p> <p>Arterial plasma concentration of glucose decreased in GS-feeding and increased in FB-feeding when RPM was added in the diets. Sulphur-containing amino acid (Met, Cys) and taurine concentrations increased in plasma with RPM. Grass silage diets contained more methionine and cysteine than FB-diets.</p> <p>According to this experiment a part of grass silage could be replaced with faba bean silage without a decrease in milk production. Methionine supplement was useless in grass silage feeding and caused negative production responses. However, methionine supplement can improve milk composition and nitrogen utilization in diet which includes faba bean silage and faba bean protein feed.</p>		
Avainsanat — Nyckelord — Keywords Faba bean, faba bean silage, methionine, dairy cow, nitrogen utilization		
Säilytyspaikka — Förvaringsställe — Where deposited Department of Agricultural Sciences		
Muita tietoja — Övriga uppgifter — Further information Supervisors university researcher Anni Halmemies-Beauchet-Filleau and professor Aila Vanhatalo		

SISÄLLYS

LYHENTEET	6
1 JOHDANTO	7
2 HÄRKÄPAPU LYPSELEHMIEN REHUNA	8
2.1 Viljely ja säilöntä	8
2.2 Säilörehun kemiallinen koostumus	9
2.3 Härkäpapusäilörehun tuotosvasteet.....	10
2.4 Metioniinilisän vaikutus.....	10
3 TUTKIELMAN TAVOITTEET	11
4 AINEISTO JA MENETELMÄT	12
4.1 Koejärjestelyt	12
4.1.1 Koeasetelma ja koe-eläimet	12
4.1.2 Rehut ja ruokinta.....	13
4.2 Näytteiden keruu ja mittaukset	15
4.2.1 Maitotuotos	15
4.2.2 Kuntoluokka ja elopaino	15
4.2.3 Rehunkulutus ja rehunäytteet.....	15
4.2.6. Verinäytteet.....	16
4.3 Näytteiden analysointi.....	16
4.4 Tulosten laskenta ja tilastollinen analyysi	17
5 TULOKSET	19
5.1 Rehujen kemiallinen koostumus ja säilörehujen säilönnällinen laatu	19
5.2 Rehujen syönti ja ravintoaineiden saanti	20
5.3 Plasman aineenvaihduntatuotteiden pitoisuudet ja otto maitorauhaseen	21
5.4 Maitotuotos ja maidon koostumus	25
6 TULOSTEN TARKASTELU	26
6.1 Rehujen kemiallinen koostumus ja rehuarvot	26
6.2 Syönti ja ravintoaineiden saanti	29
6.3 Plasman aineenvaihduntatuotteet	30
6.3.1 Metioniini.....	30
6.3.2 Rikkipitoiset aineenvaihduntatuotteet.....	31
6.3.3 Glukoosi.....	32
6.3.4 Muut aminohapot	33
6.3.5 Vapaat rasvahapot.....	34
6.3.6 Maidontuotantoa rajoittavat aminohapot	35
6.4 Maitotuotos ja maidon koostumus	35

6.4.1 Nurmisäilörehun korvaaminen härkäpapusäilörehulla	35
6.4.2 Pötsisuojatun metioniinin vaikutus tuotokseen.....	36
6.4.3 Maidon valkuainen ja rasva	37
6.4.4 Maidon laktoosi.....	41
6.4.5 Energiakorjattu maitotuotos ja rehun hyväksikäyttö	41
7 JOHTOPÄÄTÖKSET	43
8 KIITOKSET	44
LÄHTEET	45

LYHENTEET

AV-erotus = valtimo- ja laskimoplasman pitoisuuksien erotus

BHBA = β -hydroksivoihappo

D-arvo = sulavan orgaanisen aineen pitoisuus kuiva-aineessa, g/kg ka

EKM = energiakorjattu maitotuotos

HP = härkäpapusäilörehun ja timotei-nurminatasäilörehun seos 2:1 kuiva-aineessa

ka = kuiva-aine

MET = pötsisuojattu metioniini

NALM = N-asetyyli-L-metioniini

NDF = neutraalidetergenttikuitu

NEFA = vapaat rasvahapot

Nurmi = timotei-nurminatasäilörehu

RV = raakavalkuainen

SEM = keskiarvon keskivirhe

1 JOHDANTO

Valkuaisrehujen omavaraisuusaste on Suomessa alhainen ja se on lisännyt kiinnostusta käyttää kotimaisia palkokasveja kotieläinten valkuaisruokinnassa. Kotieläinten ruokinnassa käytetystä täydennysvalkuaisesta noin 15 % on Suomessa kotimaista (Puhakka ym. 2012, Kaukovirta-Norja ym. 2015). Valkuaisomavaraisuuden parantaminen on tärkeää, jotta rehuihin liittyvät eläintautiriskit saadaan minimoitua, ja tuotannon jatkuvuus myös poikkeusoloissa varmistetaan (Puhakka ym. 2012). Palkokasvien viljelyn ja käytön lisääminen voisi olla yksi ratkaisu valkuaisomavaraisuuden parantamiseksi. Runsaasti valkuaista sisältävä palkokasvi härkäpapu (*Vicia faba*) on pitkään ollut Euroopan eri osissa käytössä ruokana ja rehuna (Crépon ym. 2010). Watsonin ym. (2017) mukaan palkokasvien viljely on kuitenkin Euroopassa vähäisempää kuin muualla maailmassa. Palkokasvit monipuolistavat viljelykiertoa (Jensen ym. 2010, Köpke ja Nemecek 2010) ja niiden etuna on biologinen typensidonta, mikä vähentää mineraalityypilannoitteiden tarvetta (Jensen ym. 2010, Jiménez-Calderón ym. 2017). Palkoviljoja voidaan hyödyntää väkirehuna tai kokoviljasäilörehuna nautojen ruokinnassa.

Härkäpavun suuri raakavalkuais- ja tärkkelyspitoisuus tekee siitä kiinnostavan vaihtoehdon lypsylehmien ruokintaan. Luonnonvarakeskuksen mukaan härkäpapu sisältää raakavalkuaista 30 % kuiva-aineesta (ka) ja tärkkelystä 38 % kuiva-aineesta (Luke 2020). Härkäpapuvalkuaisen on todettu sisältävän niukasti metioniiniä (Duc ym. 1999, Halmemies-Beauchet-Filleau ym. 2018). Näin ollen pötsisuojutettu metioniini voisi tasapainottaa härkäpapurehun aminohappokoostumusta. Pötsisuojutun metioniinin käyttöä lypsylehmien ruokinnassa on tutkittu paljon (mm. Berthiaume ym. 2006, Broderick ym. 2009, Patton ym. 2010, Zhao ym. 2019). Härkäpapusäilörehuruokinnan ja metioniinilisän yhdistämisestä ei kuitenkaan vaikuta olevan aikaisempaa tutkimusta.

Tässä tutkielmassa selvitetään, kuinka nurmisäilörehun osittainen korvaaminen härkäpapusäilörehulla sekä härkäpapuvalkuaisen aminohappokoostumuksen täydentäminen pötsisuojutulla metioniinilla vaikuttaa maitotuotokseen, maitorauhasen aminohappoaineenvaihduntaan sekä rehuvalkuaisen hyväksikäyttöön. Tutkimuksessa ruokinta sisälsi runsaasti härkäpapua, koska säilörehun lisäksi väkirehuseoksen valkuaistäydennyksenä käytettiin härkäpapujauhoa.

2 HÄRKÄPAPU LYPSELEHMIEN REHUNA

Aikaisemmissa tutkimuksissa on todettu, että härkäpapu voi korvata ainakin osittain muita valkuaisrehuja, kuten soija- ja rypsirouhetta lypsylehmien ruokinnassa (Tufarelli ym. 2012, Virkajärvi ym. 2015, Watson ym. 2017, Johnston ym. 2019). Melicharován ym. (2009) mukaan härkäpapu voi korvata 20 % muusta väkirehusta lypsylehmien ruokinnassa. Kuitenkin härkäpavun lisäys on yhdistetty maidon valkuaispitoisuuden vähenemiseen, veren ureapitoisuuden lisääntymiseen sekä pienempiin keskimääräisiin elopainoihin (Johnston ym. 2019). Puhakka ym. (2016) totesivat, että härkäpavun käyttö ainoana lypsylehmien valkuaisrehuna voi vähentää säilörehun syöntiä ja maitotuotosta. Hallemies-Beauchet-Filleau ym. (2020) totesivat kuitenkin härkäpavun lisäävän kuiva-aineen syöntiä, kun sillä korvattiin rypsirouhetta nurmisäilörehu-viljaruokinnassa. Heidän tutkimuksessaan maitotuotoksissa ei todettu eroja härkäpapu- ja rapsiruokintojen välillä.

Härkäpapua on tutkittu enemmän väkirehuna, mutta aikaisempaa tutkimusta on myös härkäpapusäilörehun käytöstä lypsylehmien karkearehuna (Mc Knight ja Mac Leod 1977, Ingalls ym. 1979, Palmio ym. 2016, Baizán ym. 2017, Baizán ym. 2018). Härkäpapua on tutkittu myös karkearehuseoksena viljojen (Faulkner 1985, Kuoppala ym. 2014ab, Lamminen ym. 2015), maissin (Stoltz ja Nadeau 2014) ja rapsin kanssa (Jiménez-Calderón ym. 2017). Palmio ym. (2016) totesivat härkäpapusäilörehun olevan yksi vaihtoehto korvaamaan osan nurmisäilörehusta ja rypsiä lypsylehmien ruokinnassa. Kuoppalan ym. (2016) mukaan parhaiten säilörehun tuotantoon sopivat ulkomaiset härkäpapulajikkeet, joiden biomassan tuotanto on suurempaa kuin kotimaisen Kontu-lajikkeen biomassan tuotanto.

2.1 Viljely ja säilöntä

Härkäpapua pidetään haastavana viljelykasvina sen pitkän kasvuajan ja säilöntäominaisuuksien vuoksi. Pennasen ym. (2016) mukaan viljelyvarmuutta voidaan parantaa viljelemällä valkuaiskasveja seoskasvustoina. Palkoviljojen korjuun on todettu olevan viljelyvarmempaa kokoviljasäilörehuna verrattuna siemenkasvuston korjaamiseen (Palmio ym. 2016). Härkäpavun lämpösummavaatimus on melko korkea kylvöstä tuleentumiseen (Kontu 1124 °C; Laine 2017, Boreal 2020), joten kokoviljasäilörehun korjaaminen tuo varmemman sadon.

Palkokasvisäilörehujen tai niiden ja viljojen säilörehuseosten etuna on kertakorjuu (Kuoppala ym. 2014a) ja korjuuajankohdan sijoittuminen usein eri ajankohtaan nurmen korjuun kanssa (Seppälä ym.

2019). Näin on mahdollista myös tasata tilan työhuippuja. Palkokasvien ja viljan seoksia voidaan käyttää myös suojakasvustona nurmea perustettaessa (Seppälä ym. 2019). Härkäpapusäilörehun kuiva-ainesadon on todettu lisääntyvän, jos korjuuta myöhäistetään (Fraser ym. 2001). Kuoppalan ym. (2014a) tutkimuksen perusteella myöhäisemmällä korjuulla saavutetaan myös härkäpapuseoskasvustoissa suuremmat kuiva-aine-, raakavalkuais- ja tärkkelyspitoisuudet. Tämä on seurausta pallojen täyttymisestä. Kuitenkin samaan aikaan lehdet alkavat kuihtua, ja niiden varistessa menetetään sulavaa ja valkuaispitoista biomassaa. Näin ollen optimaalisin korjuuajankohta olisi, kun palot ovat täyttyneet, mutta lehdet ovat vielä vehreitä (Kuoppala ym. 2014b). Mikäli kuitenkin halutaan vähentää korjuutappioita, on korjuu tehtävä jo aikaisemmin, kun palot ovat pehmeitä eivätkä vielä täyttyneitä (Kuoppala ym. 2014b). Nykäsen (2010) mukaan sopiva härkäpapusäilörehun korjuuajankohta on noin 3–4 viikkoa kasvuston kukinnan alkamisesta.

Faulkner'in (1985) mukaan härkäpapakarkearehun kuiva-ainesato ja raakavalkuaistuotto hehtaaria kohden oli suurempi monokulttuurina, kuin kauran kanssa seoskasvustona. Hän myös totesi härkäpavun tuottavan hyvin satoa ilman typpilannoitusta. Palkokasviviljasäilörehulla nähdään potentiaalia lypsylehmien ruokinnassa sillä, härkäpavuviljaseoskasvustoilla on saavutettu suuria, yli 10 000 kg, kuiva-ainesatoja kotimaisissa tutkimuksissa (Kuoppala ym. 2014a, Kuoppala ym. 2016). Raakavalkuaissato on näissä tutkimuksissa ollut lähes 1600 kg/ha. Myös vanhemmassa ulkomaisessa tutkimuksessa härkäpapusäilörehun sato oli yli 10 000 kg kuiva-ainetta hehtaarilta (Thompson ja Taylor 1982).

Palkoviljojen pieni kuiva-aine- ja sokeripitoisuus sekä suuri puskurikapasiteetti voivat aiheuttaa haasteita niiden säilönnässä (Fraser ym. 2001, Palmio ym. 2016). Palkoviljarehun esikuivatuksella on edullinen vaikutus rehun säilöntään, mutta riskinä ovat merkittävät varisemistappiot (Seppälä ym. 2014). Härkäpavuvehnäsäilörehun säilöntä on kuitenkin onnistunut hyvin muurahaishappopohjaisella säilöntäaineella pienestä kuiva-ainepitoisuudesta huolimatta (Seppälä ym. 2014 ja 2019).

2.2 Säilörehun kemiallinen koostumus

Härkäpapusäilörehun raakavalkuaispitoisuus on vaihdellut aikaisemmissa tutkimuksissa välillä 150–222 g/kg kuiva-ainetta ja kuiva-ainepitoisuus välillä 188–351 g/kg (Mc Knight ja Mac Leod 1977, Ingalls ym. 1979, Fraser ym. 2001, Mustafa ja Seguin 2003, Palmio ym. 2016, Baizán ym. 2018). Nurmisäilörehussa on tyypillisesti suurempi kuiva-ainepitoisuus ja pienempi raakavalkuaispitoisuus

verrattuna härkäpapusäilörehuun (Luke 2020). Härkäpavun kuten monien muidenkin palkoviljojen valkuainen on hyvin sulavaa ja hajoaa nopeasti pötsissä (Crépon ym. 2010, Palmio ym. 2016, Luke 2020). Tämän takia kokoviljasäilörehuksi korjattu härkäpapu ei ole aivan rypsin veroinen valkuaisen lähde (Palmio ym. 2016). Palkokasvien tärkkelyksen on puolestaan todettu olevan hitaammin pötsissä ja ohutsuolessa sulavaa verrattuna ohran ja vehnän tärkkelykseen (Larsen ym. 2009). Nurmisäilörehu ei sisällä tärkkelystä (Luke 2020), joten härkäpapusäilörehun tärkkelyksellä on mahdollista korvata väkirehujen tärkkelystä.

2.3 Härkäpapusäilörehun tuotosvasteet

Kuiva-aineen syönnin ja maitotuotoksen on todettu säilyvän vähintäänkin samalla tasolla härkäpapusäilörehuruokinnassa ja härkäpapunurmisäilörehuruokinnassa verrattuna puhtaaseen nurmiruokintaan (Mc Knight ja Mac Leod 1977, Ingalls ym. 1979, Palmio ym. 2016, Baizán ym. 2017). Palmio ym. (2016) totesivat syönnin ja maitotuotoksen lisääntyvän, kun nurmiruokinnasta osa korvataan härkäpapusäilörehulla. Kuiva-aineen syönti ja maitotuotos oli saatu ylläpidettyä nurmisäilörehuruokinnan tasolla myös härkäpapu- ja kokoviljasäilörehun seoksella korvattaessa nurmisäilörehua (Lamminen ym. 2015). Härkäpapusäilörehun oli todettu lisäävän maidon rasva- ja valkuaispitoisuuksia (Baizán ym. 2018), mutta useissa tutkimuksissa härkäpapusäilörehu ei ole vaikuttanut maidon rasva- ja valkuaispitoisuuksiin (Mc Knight ja Mac Leod 1977, Ingalls ym. 1979, Lamminen ym. 2015). Härkäpapusäilörehun on todettu lisäävän maidon ureapitoisuutta (Lamminen ym. 2015, Baizán ym. 2017, Baizán ym. 2018).

2.4 Metioniinilisän vaikutus

Härkäpapuvalkuainen sisältää runsaasti lysiniä, mutta sen metioniini-, kysteiini- ja tryptofaanipitoisuudet on todettu mataliksi (Duc ym. 1999). Vanhatalon ym. (2020) mukaan tasapainottamalla ruokinnan aminohappokoostumusta yksittäisillä pötsisuojuilla aminohapoilla voidaan teoriassa pienentää ruokinnan valkuaispitoisuutta ja saavuttaa pienempiä virtsan typpipäästöjä. Samassa tutkimuksessa maidon valkuaisuutoksen ennustetta saatiin parannettua hieman ottamalla lineaarisessa mallissa huomioon arginiini, histidiini ja leusiini sekä toisen asteen mallissa leusiini ja metioniini. Heidän tutkimuksensa perusteella aminohappojen optimointi voi vaikuttaa säilörehupohjaisessa ruokinnassa maidon valkuaisuutosta lisäävästi. Erityisesti jos ruokinnan valkuaispitoisuus on pieni tai aminohappokoostumus ei ole optimaalinen.

Blum ym. (1999) vertailivat tutkimuksessaan kahta pötsisuojaattua metioniinia ja totesivat Smartamine-valmisteen (Rhône-Poulenc, Animal Nutrition, Antony, Ranska) biologisen hyötykäytön tehokkaammaksi verrattuna Mepron-valmisteseen (Degussa AG, Hanau, Saksa). Tämän he epäilivät johtuneen valmisteiden erilaisista pötsisuojauksista tai erilaisesta imeytyvyydestä ohutsuolessa. Mepronin vaikutuksesta metioniinin ja insuliinin pitoisuudet plasmassa lisääntyivät ja NEFA-pitoisuus väheni. Aminohapoista metioniinin, tauriinin ja glutamiinin pitoisuudet plasmassa olivat suuremmat Smartaminea saaneilla kuin Mepronia saaneilla lehmillä.

Rulquin'in ym. (2006) tutkimuksessa Smartamine (Adisseo SAS, Antony, Ranska) ja nestemäinen HMBi (MetaSmart; Adisseo SAS, Antony, Ranska) lisäsivät maidon valkuaispitoisuutta ja -pitoisuutta, kun ruokinnan raakavalkuaispitoisuus oli 153 g/kg ka ja ohutsuolessa imeytyvän metioniinin määrä 10,6 g/vrk. Puolestaan Blumin ym. (1999) tutkimuksessa heinämaissisäilörehuruokinnassa Smartamine ja Mepron eivät kumpikaan vaikuttanut maidon valkuaispitoisuuteen, vaikka metioniiniannos oli 50 g/vrk. Näin ollen perusruokinnan koostumuksella ja sen aminohappokoostumuksella on varmasti vaikutusta metioniinin tarpeeseen sekä hyväksikäyttöön. Patton (2010) totesi meta-analyysinsä perusteella Mepronin ja Smartaminen vaikuttavan eri tavoin maidon ja maitovalkuaisen tuotantoon sekä kuiva-aineen syöntiin. Hän totesi Mepronia saaneiden lehmien maito- ja valkuaisuotokset suuremmiksi kuin Smartaminea saaneiden, mutta kuiva-aineen syönti ja maidon valkuaispitoisuus olivat Smartaminea saaneilla lehmillä suuremmat.

Metioniinilisän annosmäärien vaikutuksista on ristiriitaista tietoa tutkimuksissa. Guinard'in ja Rulquin'in (1995) tutkimuksessa ohutsuoli-infuusiona annettu DL-metioniinilisä lisäsi maidon valkuaispitoisuutta suuntaa-antavasti maissisäilörehuruokinnassa. Tutkimuksessa metioniinia annettiin 0, 8, 16 tai 32 g/vrk ja valkuaispitoisuus lisääntyi vielä 16 g metioniinilisällä, mutta ei enää 32 g metioniinitasolla. Berthiaumen ym. (2006) mukaan ensimmäistä kertaa poikineiden lehmien maidon valkuaispitoisuus lisääntyi kuitenkin lineaarisesti metioniinilisän (Mepron) myötä nurmi-maissipohjaisessa ruokinnassa, kun ohutsuolessa imeytyvän metioniinin annokset olivat 0, 27 tai 61,6 g/vrk.

3 TUTKIELMAN TAVOITTEET

Tämän tutkielman tavoitteena oli selvittää härkäpapusäilörehun sekä pötsisuojatun metioniinilisän vaikutuksia maitotuotokseen, maitorauhasen aminohappoaineenvaihduntaan ja rehuvalkuaisen hy-

väksikäyttöön maitovalkuaiseksi. Tutkimuksessa verrattiin nurmisäilörehupohjaista ruokintaa ruokintaan, jossa 2/3 nurmisäilörehun kuiva-aineesta korvattiin puhtaalla härkäpapusäilörehulla. Tutkimuksen hypoteesit olivat:

1. Nurmisäilörehua voidaan korvata härkäpapusäilörehulla ilman, että maitotuotos heikkenee.
2. Rehuvalkuaisen hyväksikäyttö maitovalkuaiseksi on heikompi härkäpapu- kuin nurmisäilörehuruokinnassa.
3. Etenkin härkäpapusäilörehuruokinnassa metioniinilisä parantaa maito- ja valkuaistuotosta sekä rehuvalkuaisen hyväksikäyttöä.

4 AINEISTO JA MENETELMÄT

4.1 Koejärjestelyt

4.1.1 Koeasetelma ja koe-eläimet

Tutkimus toteutettiin Helsingin yliopiston Viikin opetus- ja tutkimustilan navetassa 28.9.-20.12.2019. Tutkimus kuuluu monitieteelliseen Leg4Life: Palkokasveilla kohti kestäväää ruokajärjestelmää ja terveyttä –projektiin, jota rahoittaa Suomen Akatemian yhteydessä toimiva Strategisen tutkimuksen neuvosto (STN). Kokeessa oli 8 ayrshire -rotuista lypsylehmää, joista neljä oli kerran poikineita ja toiset neljä useamman kerran poikineita. Kerran poikineilla poikimisesta oli keskimäärin 31 päivää (keskihajonta 5,3) kokeen alkaessa. Useamman kerran poikineilla poikimisesta oli keskimäärin 181 päivää (keskihajonta 18,5). Kerran poikineiden lehmien keskimääräinen maitotuotos oli kokeen alussa 24,3 kg/vrk (keskihajonta 1,82 kg) ja useamman kerran poikineiden keskimääräinen maitotuotos kokeen alussa oli 34,3 kg/vrk (keskihajonta 4,79 kg). Lehmien elopaino oli keskimäärin 633 kg (keskihajonta 66,9 kg) kokeen alussa ja kokeen lopussa 658 kg (keskihajonta 66,7 kg). Kuntoluokaltaan lehmät olivat kokeen alussa 3,2 (keskihajonta 0,19) ja kokeen lopussa 3,2 (keskihajonta 0,12). Lehmät olivat kytkettyinä parteen kokeen ajan.

Koemallina käytettiin kerran toistettua, tasapainotettua 4 x 4 latinalaista neliötä. Neliön 1 lehmät olivat kerran poikineita ja neliön 2 lehmät useamman kerran poikineita. Tutkimuksessa oli faktoriaalinen 2 x 2 koeasetelma, jonka tutkittavina tekijöinä olivat säilörehun kasvilaji ja härkäpapuvalkuaisen

täydennys pötsisuojatulla metioniinilla. Koekaavio on esitetty Taulukossa 1. Koe sisälsi neljä ruokintaa ja neljä jaksoa, kunkin jakson pituus oli 21 päivää. Karkearehuna oli joko nurmisäilörehu tai härkäpapu-nurmisäilöhuseos, pötsisuojatulla metioniinilisällä tai ilman. Kunkin jakson ensimmäiset 14 päivää olivat totutuskautta ja viimeiseltä 7 päivältä kerättiin näytteitä, joiden perusteella tulokset laskettiin.

Taulukko 1. Koekaavio.

Jakso	Neliö 1				Neliö 2			
	Lehmä 1	Lehmä 2	Lehmä 3	Lehmä 4	Lehmä 5	Lehmä 6	Lehmä 7	Lehmä 8
1	Nurmi	Nurmi MET	HP	HP MET	Nurmi	Nurmi MET	HP	HP MET
2	Nurmi MET	HP	HP MET	Nurmi	Nurmi MET	HP	HP MET	Nurmi
3	HP MET	Nurmi	Nurmi MET	HP	HP MET	Nurmi	Nurmi MET	HP
4	HP	HP MET	Nurmi	Nurmi MET	HP	HP MET	Nurmi	Nurmi MET

Nurmi = timotei-nurminatasäilörehu, HP = härkäpapusäilörehun ja timotei-nurminatasäilörehun seos 2:1 kuiva-aineessa, MET = pötsisuojatun metioniini.

4.1.2 Rehut ja ruokinta

Säilörehut olivat timotei-nurminatasäilörehu (Nurmi; *Phleum pratense* ja *Schedonorus pratensis*) ja seos, jossa 2/3 timotei-nurminatasäilörehun kuiva-aineesta korvattiin puhtaalla härkäpapusäilörehulla (HP; *Vicia faba*, Kontu-lajike). Pötsisuojatun metioniini (31,6 g/pv; Smartamine M, Kemin Europa, Herentals, Belgia, metioniinia 74 %) annettiin lypsyjen yhteydessä sekoitettuna melassileikkeeseen (1 kg/pv; Lantmännen Opti Leike, Lantmännen Feed, Turku, Suomi) tai melassileike annettiin ilman metioniinia. Ohutsuolesta imeytyvän metioniinin määrä (63,2 % Smartaminesta) oli valmistajan antamien suojaustehokkuus- ja sulavuustietojen mukaan tällöin 20 g/pv. Lisäksi nurmiruokinnassa siroteltiin päivän ensimmäisen klo 9:n rehunjaon yhteydessä 50 g ruokintakalkkia (Nordkalk Aito ruokintakalkki, Hankkija Oy, Hyvinkää) eläintä kohden seosrehun päälle.

Nurmisäilörehuna oli ensimmäisen sadon esikuivattua timotei-nurminatarehua, joka oli korjattu 11.-13.6.2019 noukinvaunulla (Krone XXL R/GL, Maschinenfabrik Bernard Krone GmbH, Spelle, Saksa) kahteen eri laakasiiloon. Säilöntäaineena käytettiin AIV2 Plus Na-valmistetta (5 l / 1000 kg

rehua; Taminco Finland Oy, Oulu, Suomi). Kasvuston niitossa käytettiin niittomurskainta (Krone easycut 3210V). Härkäpapukasvusto korjattiin 26 tunnin esikuivauksen jälkeen pyöröpaaleihin yhdistelmäpaalaimella (Lely Welger RPC 245 Tornado, Lely International, Maassluis, Alankomaat) 24.7.2019 ja säilöntäaineena käytettiin AIV Plus Na-valmistetta (6 l / 1000 kg rehua). Niitto tapahtui 23.7.2019 10–12 cm sänkeen niittomurskaimella (Krone easycut 3210V) murskausteho säädettyinä minimiin. Paalauksessa verkkoa käytettiin 2,5 kierrosta ja käärintämuovia (Silotite valkoinen UV - suojattu 5-kerroskalvo, RPC bpi agriculture, Zele, Belgia) kahdeksan kerrosta 55 % limityksellä.

Karkearehu–väkirehu -suhde oli seosrehun kuiva-aineessa 60:40. Seosrehun väkirehu koostui Viikin opetus- ja tutkimustilalla tuotetusta kaurasta, ohrasta ja härkäpavusta sekä Seleeni–E–Melli TMR -kivennäisestä (Lantmännen Feed, Turku, Suomi). Väkihuseos (Taulukko 2) jauhettiin tornisiiloon rahtimyllyn rehuauton (Tropper Master Mix 3–6 t, Tropper Maschinen and Anlagen GmbH, Redlham, Itävalta) vasaramyllyllä HM660 6 mm:n seulalla (kaura ja härkäpapu) tai valssimyllyllä (ohra). Propyleeniglykolia käytettiin pölyämisen estämiseksi. Kivennäistä lisättiin seosrehuun 1,5 % seoksen kuiva-aineesta ja se punnittiin erikseen ennen seosrehun tekoa ja lisättiin karkearehua kuljettavalle hihnalle käsin. Seosrehut valmistettiin kolmesti viikossa maanantaisin, keskiviikkoisin ja perjantaisin seosrehusekoittimessa (CutMix, Pellon Group, Ylihärmä, Suomi) ja sekoittavassa rehuvaunussa (TMR-SUK M2, Pellon Group, Ylihärmä, Suomi). Seosrehut varastoitiin kylmiöön (+ 6 °C) käsin työnnettäviin rehukärryihin.

Taulukko 2. Seosrehun väkihuseoksen koostumus

Väkihuseos (kg rehua):	
Härkäpapujauho	311
Ohra	226
Kaura	453
Propyleeniglykoli	10
Yhteensä	1000

4.2 Näytteiden keruu ja mittaukset

4.2.1 Maitotuotos

Lehmät lypsettiin kahdesti päivässä klo 6:00 ja klo 17:00 alkaen putkilypsykoneella (Delpo, Delaval, Ruotsi). Maitomäärä mitattiin lypsylaitteistoon yhdistettävillä maitomittareilla (WB Auto Sampler, Tru-Test, Auckland, Uusi-Seelanti) koko kokeen ajalta. Keruuviikolla maitonäytteet kerättiin neljältä peräkkäiseltä lypsykerralta keruuviikon tiistaina ja keskiviikkona aamu- ja iltalypsyiltä. Jokaisella näytteenottokerralla koostumusnäyte kaadettiin näytepikariin, joka sisälsi *Bronopol* – säilöntäainepillerin. Näytteet lähetettiin analysoitavaksi Valio Oy:n Seinäjoen aluelaboratorioon, jossa niistä analysoitiin rasva-, valkuais-, laktoosi- ja ureapitoisuudet infrapuna-analysaattorilla (Milco Scan FT 6000, Foss, Hillerød, Tanska).

4.2.2 Kuntoluokka ja elopaino

Lehmien kuntoluokat arvioitiin kokeen alussa ja kokeen lopussa. Kuntoluokka arvioitiin asteikolla yhdestä viiteen 0,25 pisteen tarkkuudella (Edmonson ym. 1989). Arviointi tehtiin kahdeksasta eri kohdasta lehmää, joista laskettiin keskiarvo. Kuntoluokituksen teki kolme eri henkilöä ja heidän arvioistaan laskettiin keskiarvo. Lehmät punnittiin eläinvaa'alla (CV 9600 Scale, Solotop Oy, Helsinki, Suomi) kokeen alussa ja lopussa kahtena peräkkäisenä päivänä. Punnituksista laskettiin keskiarvot elopainoista.

4.2.3 Rehunkulutus ja rehunäytteet

Päivittäinen seosrehunkulutus kirjattiin ylös joka päivä ennen ja jälkeen rehun jaon. Seosrehu jaettiin käsin kolmesti päivässä klo 9:00, klo 14:00 ja klo 19:00 alkaen RIC -vaakakuppeihin (Roughage Intake Control, Insentec, Alankomaat, Marknesse). Rehujäännös tyhjennettiin kupeista kerran päivässä ennen aamun ensimmäistä rehunjakoa. Seosrehua oli vapaasti tarjolla ja rehujäännöksen määrässä pyrittiin vähintään 5 % jaetun rehun määrästä. Vaakakuppien toiminta tarkastettiin ja tarvittaessa vaakakupit kalibroitiin kokeen alussa ja ennen jokaisen jakson viimeistä viikkoa.

Säilörehuista, seosrehun väkirehuseoksesta, melassileikkeestä sekä kivennäisestä kerättiin näytteet jakson päivinä 14.–19. seosrehun teon yhteydessä. Säilörehunäytteet yhdistettiin ennen analyysiä rehuittain ja jaksoittain. Seosrehun väkirehuseoksen komponenteista (kaura, ohra ja härkäpapu) analysoitiin erikseen esinäytteet. Seosrehun väkirehuseos analysoitiin jaksoittain. Melassileikkeestä ja kivennäisestä yhdistettiin yksi näyte koko kokeen ajalta.

4.2.6. Verinäytteet

Verinäytteet otettiin kaikilta lehmillä jakson viimeisellä viikolla yhtenä päivänä klo 8:00, 11:00 ja 14:00 alkaen. Ensimmäisellä, toisella ja neljännellä jaksolla verinäytteet otettiin jakson viimeisenä perjantaina ja kolmannella jaksolla verinäytteet otettiin jakson viimeisenä keskiviikkona. Kerralla verta otettiin häntäsuonesta kaksi EDTA-vakuumiputkellista (2 x 9 ml) ja yksi EDTA-putki maitosuonesta. Näytteet säilytettiin jäissä jatkokäsittelyyn saakka. Jokaiselta näytteenottohetkeltä määritettiin glukoosi-, vapaiden rasvahappojen (NEFA) ja β -hydroksivoihapon (BHBA) pitoisuus valtimo- ja laskimoplasmassa.

4.3 Näytteiden analysointi

Rehu- ja plasmanäytteet analysoitiin Helsingin yliopiston maataloustieteiden osaston kotieläintieteen laboratoriossa (Koetilantie 5, Helsinki). Primääriset kuiva-aineet rehuista määritettiin kuivaamalla näytteitä lämpökaapissa (Memmert, Memmert GmbH, Saksa) 103 °C:ssa 24 tuntia. Analyysinäytteet kuivatettiin ensin 103 °C:ssa tunnin ajan ja sen jälkeen 50 °C:ssa kaksi vuorokautta. Kuivatut analyysinäytteet jauhettiin vasaramyllyllä (Sakomylly KT-3100, Koneteollisuus Oy, Helsinki, Suomi). Jauhatussessa käytettiin 1 mm:n seula.

Analyysinäytteistä määritettiin sekundäärinen kuiva-ainepitoisuus lämpökaapissa 103 °C:n 17 tunnin käsittelyllä. Polttamalla analyysinäytettä 20–24 tuntia 600 °C:ssa muhveliuunissa (Heraeus Thermicon T, Heraeus, Hanau, Saksa), määritettiin näytteen epäorgaanisen tuhkan pitoisuus. Raakavalkuaispitoisuus määritettiin Kjeldahl-menetelmällä (AOAC 1995) ja laitteina käytettiin Tecator-polttolaitetta (Tecator Digestion Auto ja Tecator Scubber) sekä tislau- ja titrauslaitteistoa (FOSS Kjeltex Auto 2300, Foss, Hillerød, Tanska). Neutraalidetergenttikuidun pitoisuus määritettiin automaattisella FiberTherm FT12 –uuttolaitteella (Gerhardt, Königswinter, Saksa) Van Soestin ym. (1991) mukaan. Määrittämisessä käytettiin natriumsulfiittia ja väkirehuissa lisäksi α -amylaasia. Tulokset on ilmoitettu

ilman jäännöstuhkaa. Tärkkelyspitoisuus määritettiin amyloglukosidaasi- ja α -amylaasimetodilla käyttäen Megazymen K-TSTA-kittiä (Megazyme, Co. Wicklow, Irlanti).

Säilörehun orgaanisen aineen *in vitro* -sulavuus määritettiin pepsiini-sellulaasi-menetelmällä (Friedel 1990) käyttäen menetelmästä Nousiaisen ym. (2003) muunnelmaa. *In vitro* -sulavuuden perusteella laskettiin sulavan orgaanisen aineen (D-arvo) pitoisuus säilörehun kuiva-aineessa. Säilörehujen kuiva-ainekorjausta varten ei oltu vielä analysoitu kaikkia lämpökaappikuivauksessa haihtuvia komponentteja tämän tutkielman valmistuessa, joten lopulliset tutkimuksen tulokset voivat vielä hieman muuttua sekä säilörehujen kuiva-ainepitoisuuden että säilörehun kuiva-aineen syönnin ja edelleen ravintoaineiden saannin osalta. Säilörehunäytteistä määritettiin pH (S20 SevenEasy™ pH, Mettler Toledo Ltd, Leicester, Iso-Britania). Muovipussiin punnittiin 50 g säilörehua ja siihen lisättiin 50 ml tislattua vettä, annettiin liota 30 minuuttia huoneen lämmössä ja puristamalla saadusta nesteestä mitattiin pH. Säilörehujen pelkistävien sokerien eli vesiliukoisten hiilihydraattien pitoisuus määritettiin kolorimetrisellä menetelmällä (Somogyin 1945 ja Salo 1965) laitteena käytettiin spektrofotometriä (Shimadzu UV-VIS mini 1240, Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, Saksa).

Plasman aminohappopitoisuudet määritettiin nestekromatografilla UPLC-menetelmällä Puhakan ym. (2016) mukaan käyttäen Waters MassTrak AAA-kolonnia (186004097, Waters, Milford, MA, Yhdysvallat). Plasman aminohapoista määritettiin kystiinipitoisuus kysteinipitoisuuden sijaan. Kystiini on kahden kysteiinin dimeeri. Plasman glukoosi-, vapaiden rasvahappojen (NEFA) ja β -hydroksivoihapon (BHBA) pitoisuudet määritettiin Konelab 30i -laitteella (Konelab Oy, Espoo, Suomi). Glukoosin määrittämisessä käytettiin Glucose GOD-POD -kittiä (Thermo Fisher Scientific Oy, Vantaa, Suomi). Vapaiden rasvahappojen määrittämisessä käytettiin NEFA-HR(2) -kittiä (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Saksa) ja BHBA:n määrittämisessä Ranbut-kittiä (Radox Laboratories, Crumlin, Iso-Britannia).

4.4 Tulosten laskenta ja tilastollinen analyysi

Tulokset laskettiin Microsoft Excel-taulukkolaskentaohjelmalla ja analysoitiin varianssianalyysillä käyttäen SAS-ohjelmistoa (versio 9.4, SAS Institute Inc. Cary, NC). Kiinteinä muuttujina tilastomallissa olivat neliö, jakso neliön sisällä ja koeruokinta, lisäksi satunnaisena muuttujana oli eläin neliön sisällä. Ortogonaalisin kontrastein testattiin säilörehun kasvilajin (Nurmi- vs. HP-ruokinta) ja metioniinilisän vaikutusta sekä näiden yhdysvaikutusta. Keskiarvon keskivirheen (SEM, standard error of

the mean) avulla esitettiin tutkimushavaintojen tilastomallin selittämätön hajonta. Tilastollisten tulosten merkitsevyys ilmoitettiin p-arvoina, joista $p < 0,001$ on erittäin merkitsevä, $p < 0,01$ on hyvin merkitsevä, $p < 0,05$ on merkitsevä ja $p < 0,10$ on suuntaa-antava.

Ravintoaineiden saannit laskettiin kuiva-aineen syöntimäärien ja rehujen analyysitulosten perusteella. Rehujen kuiva-ainepitoisuudet kerrottiin rehujen ravintoainepitoisuuksilla. Valtimoplasman ja laskimoplasman aineenvaihduntatuotteiden erotus (AV-erotus) laskettiin valtimo- ja laskimopitoisuuksien erotuksena. Maitorauhasen plasman aineenvaihduntatuotteiden eristystehokkuus (%) laskettiin Halmemies-Beauchet-Filleau ym. (2013) mukaan kaavalla 1.

$$\text{Eristystehokkuus (\%)} = \frac{(\text{valtimoplasman pitoisuus} - \text{laskimoplasman pitoisuus})}{\text{valtimoplasman pitoisuus}} * 100. \quad (1)$$

Plasman virtaus maitorauhaseen määritettiin Fickin säännön mukaan (kaava 2), joka perustuu fenyyllialaniinin ja tyrosiinin siirtymiseen plasmasta maitovalkuaiseen (Cant ym. 1993).

$$\text{Plasman virtaus} \left(\frac{l}{vrk} \right) = (\text{maidon Phe} + \text{Tyr}) * \frac{0,965}{\text{AV-erotus Phe} + \text{AV-erotus Tyr}}, \quad (2)$$

jossa Phe = fenyyllialaniini ja Tyr = tyrosiini.

Aineenvaihduntatuotteiden otto maitorauhaseen (mmol/vrk) laskettiin Halmemies-Beauchet-Filleau ym. (2013) mukaan kertomalla aineenvaihduntatuotteen AV-erotus (mmol/l) plasman virtauksella (l/vrk).

Energiakorjattu maitotuotos (EKM) laskettiin Sjaunjan ym. (1990) mukaan kaavalla 3.

$$\text{EKM (kg)} = \text{maitotuotos (kg)} * \left[\frac{38,3 * \text{rasvapitoisuus} \left(\frac{g}{kg} \right) + 24,2 * \text{valkuaispitoisuus} \left(\frac{g}{kg} \right) + 16,54 * \text{laktoosipitoisuus} \left(\frac{g}{kg} \right) + 20,7}{3,140} \right]. \quad (3)$$

Plasman aminohappodatassa tehtiin tarvittaessa logaritmi- ja käänteislukumuunnoksia normaalijaukautuneisuuden saavuttamiseksi. Jos aineisto ei näiden muutosten jälkeen ollut normaalisti jakautunut, poistettiin selkeästi muusta datasta poikkeavat havainnot ennen varianssianalyysia.

5 TULOKSET

5.1 Rehujen kemiallinen koostumus ja säilörehujen säilönnällinen laatu

Säilörehuista härkäpavun kuiva-aineen pitoisuus oli nurmeen verrattuna pienempi (239 vs. 366 g/kg) samoin NDF-pitoisuus (Taulukko 3). Härkäpapusäilörehun tuhka-, tärkkelys- ja raakavalkuaispitoisuudet (180 vs. 134 g/kg ka) olivat suuremmat verrattuna nurmisäilörehun pitoisuuksiin. Härkäpapusäilörehun raakavalkuainen sisälsi vähemmän niin välttämättömiä kuin ei-välttämättömiäkin aminohappoja verrattuna nurmisäilörehuun.

Nurmisäilörehun pH oli hieman suurempi kuin härkäpapusäilörehun (Taulukko 3). Sulavan orgaanisen aineen pitoisuus (D-arvo) oli molemmissa rehuissa pieni ja sen perusteella nurmisäilörehu oli härkäpapusäilörehua sulavampaa (664 vs. 593 g/kg ka). Ammoniumtypen osuus kokonaistypestä oli nurmisäilörehussa pienempi kuin härkäpapusäilörehussa. Sokeripitoisuus oli nurmisäilörehussa selvästi suurempi verrattuna härkäpapusäilörehuun.

Taulukko 3. Rehujen kemiallinen koostumus ja säilörehujen säilönnällinen laatu.

	Säilörehut		Seos-vä- kirehu	Seosväkirehun komponentit*			
	Nurmi	Härkäpapu		Härkäpapu	Ohra	Kaura	Melassileike
Kuiva-aine, g/kg	366	239	863	869	874	877	847
Kuiva-aineessa, g/kg							
Tuhka	79,2	115	35,6	41,4	25,7	33,6	60,7
NDF	575	387	211	158	160	335	280
Tärkkelys	1,6	47,8	404	341	574	365	115
Raakavalkuainen	134	180	184	297	126	133	250
Välttämättömät aminohapot, g/100g RV							
Arginiini	3,65	3,73	8,17	8,75	5,20	7,09	6,41
Fenyyialaniini	4,12	3,34	4,34	3,97	4,95	4,91	3,92
Histidiini	1,58	1,65	2,28	2,38	1,95	2,19	2,72
Isoleusiini	3,86	3,40	3,63	3,76	3,31	3,66	3,67
Leusiini	6,83	5,77	7,30	6,51	6,41	6,90	7,21
Lysiini	4,25	3,98	4,82	5,78	3,43	3,86	5,13
Metioniini	1,54	1,15	1,24	0,65	1,53	1,62	2,12
Treoniini	3,81	3,45	3,60	3,31	3,31	3,50	4,69
Tryptofaani	0,861	0,774	0,944	0,773	0,994	1,05	1,09
Valiini	4,99	4,06	4,34	4,11	4,55	4,75	4,80
Ei-välttämättömät aminohapot, g/100 g RV							
Alaniini	6,03	5,07	3,95	3,32	3,31	3,94	4,21
Asparagiinihappo	8,11	9,44	7,90	8,15	4,74	6,31	6,41
Glutamiinihappo	8,35	7,04	16,8	12,8	18,6	16,1	15,7
Glysiini	4,51	3,99	4,56	3,95	3,92	4,82	5,26
Kysteiini	3,99	3,22	4,31	2,34	7,31	7,85	4,08
Prolini	4,99	3,68	5,42	3,57	9,61	4,56	6,22
Seriini	3,89	3,75	4,93	4,45	4,12	4,91	4,77
Tyrosiini	2,24	2,31	2,78	2,93	2,78	3,08	2,79
Σ Välttämättömät	35,5	31,3	40,7	40,0	35,6	39,5	41,8
Σ Haaraketjuiset	15,7	13,2	15,3	14,4	14,3	15,3	15,7
Σ Ei-välttämättömät	42,1	38,5	50,6	41,5	54,4	51,5	49,4
Σ Aminohapot	77,6	69,8	91,3	81,5	90,0	91,0	91,2
pH	4,37	4,10					
In vitro D-arvo, g/kg ka	664	593					
OA:n in vitro liukoisuus, g/kg OA	0,748	0,721					
OA:n in vitro sulavuus, g/kg OA	0,720	0,699					
Ammoniumtyppi, g/kg N	57,2	73,9					
Sokeri, g/kg ka	97,0	52,4					

Nurmi = timotei-nurminatasäilörehu, NDF = neutraalidetergenttikuitu, RV = raakavalkuainen, ka = kuiva-aine, OA = orgaaninen aine.

* Seosväkirehu sisälsi myös teollista kivennäistä, jonka kuiva-aine oli 995 g/kg ja tuhkapitoisuus 952 g/kg ka.

5.2 Rehujen syönti ja ravintoaineiden saanti

Kuiva-aineen syönti lisääntyi HP-ruokinnassa verrattuna Nurmi-ruokintaan ($p < 0,01$; taulukko 4). Härkäpapurukinnassa tärkkelyksen, raakavalkuaisen ja orgaanisen aineen saannit lisääntyivät, mutta NDF:n vähentyi verrattuna nurmiruokintaan ($p < 0,001$). Myös aminohappojen saanti oli suurempaa HP-ruokinnassa verrattuna nurmiruokintaan ($p < 0,001$). Metioniinilisä ei vaikuttanut kuiva-aineen syöntiin tai ravintoaineiden saantiin ($p > 0,10$) paitsi, että se lisäsi metioniinin saantia ($p < 0,001$).

Taulukko 4. Kuiva-aineen syönti ja ravintoaineiden saanti.

	Koeruokinnat				SEM	Tilastollinen merkitsevyys		
	Nurmi	Nurmi + Met	Härkäpapu	Härkäpapu + Met		Nurmi vs. Hp	Met	Yhdysvaikutus
Kuiva-aine, kg/vrk	21,0	21,1	22,6	21,9	0,509	0,003	0,371	0,287
Ravintoaineiden saanti, kg/vrk								
Tärkkelys	3,09	3,11	3,74	3,63	0,091	<0,001	0,422	0,297
NDF	8,94	8,96	7,94	7,70	0,202	<0,001	0,424	0,353
Orgaaninen aine	19,4	19,4	20,5	19,9	0,465	0,021	0,382	0,296
Raakavalkuainen	3,22	3,24	3,88	3,76	0,086	<0,001	0,424	0,320
Välttämättömät aminohapot, g/vrk								
Arginiini	186	186	216	209	4,64	<0,001	0,415	0,361
Fenyyialaniini	136	137	151	146	3,39	<0,001	0,455	0,364
Histidiini	63,1	63,3	75,4	73,2	1,63	<0,001	0,415	0,336
Isoleusiini	121	122	139	135	3,05	<0,001	0,441	0,348
Leusiini	228	229	257	249	5,72	<0,001	0,424	0,321
Lysiini	147	148	171	166	3,83	<0,001	0,506	0,407
Metioniini ¹	46,9	70,4	50,4	72,4	1,19	0,001	<0,001	0,252
Treoniini	122	123	141	137	3,06	<0,001	0,405	0,318
Tryptofaani	29,5	29,6	33,9	32,8	0,764	<0,001	0,472	0,376
Valiini	152	153	169	164	3,80	<0,001	0,406	0,302
Ei-välttämättömät aminohapot, g/vrk								
Alaniini	163	164	185	179	4,07	<0,001	0,449	0,312
Asparagiinihappo	256	257	331	321	7,54	<0,001	0,472	0,425
Glutamiinihappo	401	403	444	431	9,80	<0,001	0,446	0,356
Glysiini	148	149	169	164	3,72	<0,001	0,410	0,317
Kysteini	134	133	147	143	3,76	<0,001	0,307	0,383
Prolini	170	170	182	177	4,03	0,011	0,453	0,365
Seriini	142	142	166	161	3,58	<0,001	0,415	0,343
Tyrosiini	81,1	81,3	97,5	94,6	2,17	<0,001	0,519	0,458
Σ Välttämättömät	1233	1260	1403	1385	30,8	<0,001	0,839	0,340
Σ Haaraketjuiset ²	502	504	565	548	12,5	<0,001	0,422	0,322
Σ Ei-välttämättömät	1495	1499	1722	1671	37,5	<0,001	0,423	0,350
Σ Aminohapot	2728	2736	3125	3033	68,3	<0,001	0,426	0,345

Nurmi = timotei-nurminatasäilörehu, Härkäpapu = Hp = härkäpapusäilörehun ja timotei-nurminatasäilörehun seos 2:1 kuiva-aineessa, Met = pötsisuojattu metioniini. SEM = keskiarvon keskivirhe. NDF = neutraalidetergenttikuitu. ¹pötsisuojattu metioniini otettu huomioon, metioniinilisän määrä 23,4 g/vrk vastaten 20,0 g/vrk ohutsuolesta imeytyvää metioniinia. ²Isoleusiini, Leusiini ja Valiini.

5.3 Plasman aineenvaihduntatuotteiden pitoisuudet ja otto maitorauhaseen

Valtimoplasman glukoosipitoisuus vähentyi Nurmi-ruokinnassa ja lisääntyi HP-rehuruokinnassa metioniinilisän vaikutuksesta (yhdysvaikutus $p < 0,05$; taulukko 5). Koeruokinnat eivät vaikuttaneet valtimoplasman NEFA- ja BHBA-pitoisuuksiin. Pötsisuojattu metioniini lisäsi välttämättömien aminohappojen pitoisuutta valtimoplasmassa ($p < 0,05$). Metioniinipitoisuus lisääntyi valtimoplasmassa metioniinilisän vaikutuksesta riippumatta koeruokinnan kasvilajista ($p < 0,001$). Metioniinin lisäksi myös rikkipitoisten kystiinin ja tauriinin pitoisuudet lisääntyivät metioniinilisän vaikutuksesta ($p < 0,05$). Metioniini- ja kystiinipitoisuudet olivat suuremmat nurmirehuruokinnassa verrattuna HP-ruokintaan ($p < 0,05$). Tauriinipitoisuus lisääntyi enemmän nurmiruokinnassa verrattuna HP-ruokintaan metioniinilisän vaikutuksesta (yhdysvaikutus $p < 0,05$).

Taulukko 5. Valtimoplasman aineenvaihduntatuotteiden pitoisuudet.

	Koeruokinnat				SEM	Tilastollinen merkitsevyys		
	Nurmi	Nurmi + Met	Härkä- papu	Härkä- papu + Met		Nurmi vs. Hp	Met	Yhdysvaikutus
Välttämättömät aminohapot µmol/l								
Arginiini	83,0	93,5	82,0	86,8	2,91	0,086	0,003	0,194
Fenyyialaniini	52,3	53,2	50,0	50,4	2,35	0,114	0,678	0,866
Histidiini	46,3	45,4	47,2	46,5	4,86	0,620	0,681	0,956
Isoleusiini	126	132	124	131	4,53	0,736	0,093	0,881
Leusiini	124	128	137	137	5,82	0,042	0,641	0,681
Lysiini	92,0	103	91,4	98,0	3,98	0,453	0,031	0,546
Metioniini	22,2	52,2	19,8	42,3	2,54	0,016	<0,001	0,114
Treoniini	120	123	112	112	6,15	0,009	0,526	0,632
Tryptofaani	36,2	37,8	34,0	35,2	2,01	0,052	0,240	0,833
Valiini	249	250	261	259	11,5	0,158	0,935	0,814
Ei-välttämättömät aminohapot µmol/l								
Alaniini	229	251	223	222	11,9	0,012	0,118	0,069
β-alaniini	4,16	4,17	4,00	4,05	0,16	0,272	0,797	0,883
Asparagiini	52,5	56,8	50,1	52,8	1,83	0,023	0,015	0,532
Asparagiinihappo	5,84	5,23	5,79	6,86	0,512	0,135	0,658	0,111
Glutamiinihappo	49,9	48,7	43,1	44,8	2,32	0,002	0,854	0,323
Glutamiini	259	270	262	254	12,8	0,367	0,855	0,215
Glysiini	331	309	338	310	29,6	0,603	0,008	0,747
Kystationiini ²	0,683 (4,92)	0,861 (7,77)	0,653 (4,61)	0,805 (6,62)	0,039	0,144	<0,001	0,655
Kystiini	23,8	26,0	21,2	23,9	1,01	0,003	0,002	0,660
Nτ –metyylihistidiini ³	4,08	3,96	3,37	3,58	0,17	<0,001	0,717	0,194
Nπ –metyylihistidiini ³	5,27	5,01	3,89	3,96	0,22	<0,001	0,525	0,266
Ornitiini	47,2	50,9	49,1	52,3	4,16	0,442	0,124	0,904
Prolini	81,7	87,2	82,0	81,5	3,56	0,265	0,304	0,216
Sitrulliini	65,8	69,5	68,1	69,3	4,05	0,700	0,381	0,644
Seriini	95,8	98,2	103	90,8	6,15	0,916	0,162	0,043
Tauriini	28,6	42,0	29,7	34,7	2,34	0,067	<0,001	0,018
Tyrosiini	52,3	54,2	50,8	51,2	2,88	0,230	0,557	0,676
Σ Haaraketjuiset	499	511	522	527	20,6	0,217	0,570	0,843
Σ Välttämättömät	951	1019	958	999	30,5	0,793	0,042	0,579
Σ Ei-välttämättömät ⁵	1181	1205	1179	1138	49,4	0,078	0,659	0,096
Σ Aminohapot ⁶	2131	2225	2137	2137	52,8	0,210	0,162	0,161
Karnosiini, µmol/l	22,9	23,0	24,5	23,3	1,30	0,557	0,700	0,685
Glukoosi, mmol/l	3,92	3,84	3,84	3,90	0,06	0,764	0,857	0,049
NEFA ⁷ , mmol/l	0,068	0,065	0,071	0,070	0,011	0,583	0,783	0,913
BHBA ⁸ , mmol/l	0,572	0,628	0,578	0,622	0,045	1,00	0,186	0,874

¹alfa-aminoapidihappo, ²Log₁₀-muunnos normaalijakautuneisuuden saavuttamiseksi. Alkuperäiset arvot suluissa muunnettujen arvojen alapuolella. ³IUPAC-nimeämiskäytäntö. N τ -metyylihistidiini = lihasten aktiini- ja myosiinikatabolian tuote; N π -metyylihistidiini = anseriinin hajotuksen tuote. ⁴Isoleusiini, Leusiini ja Valiini. ⁵Alaniini, Asparagiinihappo, Kysteiini, Glutamiinihappo, Glysiini, Proliini, Seriini ja Tyrosiini. ⁶Σ Välttämättömät + Σ Ei-välttämättömät ⁷Vapaat rasvahapot. ⁸β-hydroksivoihappo.

Pötsisuojaattu metioniini lisäsi välttämättömistä aminohapoista arginiinin ja lysiinin pitoisuuksia valtimoplasmassa säilörehun kasvilajista riippumatta ($p < 0,05$; taulukko 5). Plasman leusiinipitoisuus oli suurempi HP-ruokinnoissa verrattuna Nurmi-ruokintoihin ja treoniinipitoisuuden tapauksessa päinvastoin ($p < 0,05$). Ei-välttämättömistä aminohapoista alaniinipitoisuus oli suurempi nurmiruokinnassa verrattuna HP-ruokintaan ($p < 0,05$). Suuntaa-antavan yhdysvaikutuksen perusteella alanii-

nin pitoisuus lisääntyi nurmiruokinnassa, mutta ei muuttunut HP-ruokinnassa metioniinilisän vaikutuksesta. Asparagiinipitoisuus lisääntyi plasmassa metioniinilisän vaikutuksesta ja sen pitoisuudet olivat suuremmat Nurmi-ruokinnoissa verrattuna HP-ruokintoihin ($p < 0,05$). Seriinipitoisuus lisääntyi plasmassa nurmiruokinnassa, mutta vähentyi HP-ruokinnassa metioniinia lisättäessä (yhdyksvaikutus $p < 0,05$).

Glukoosin AV-erotus pieneni Nurmi-ruokinnassa ja suureni HP-rehuruokinnassa metioniinilisän myötä ($p < 0,05$; taulukko 6). Koeruokinnan kasvilajista riippumatta metioniinin AV-erotus suureni metioniinilisän vaikutuksesta ($p < 0,05$). Lisäksi seriini- ja asparagiinipitoisuuksien ($p < 0,05$) AV-erotukset suurenvat pötsisuojatun metioniinin vaikutuksesta säilörehun kasvilajista riippumatta (tuloksia ei esitetty). Alaniinipitoisuuksien ($p < 0,05$) AV-erotukset olivat suurempia Nurmi-ruokinnoissa verrattuna HP-rehuruokintoihin (tuloksia ei esitetty). Histidiinin AV-erotus suureni HP-ruokinnassa ja pieneni Nurmi-ruokinnassa suuntaa-antavasti metioniinilisän vaikutuksesta (yhdyksvaikutus $p < 0,10$).

Taulukko 6. Plasman aminohappojen ja energia-aineenvaihduntatuotteiden valtimo- ja laskimopitoisuuksien erotus

	Koeruokinnat				SEM	Tilastollinen merkitsevyys		
	Nurmi	Nurmi + Met	Härkäpapu	Härkäpapu + Met		Nurmi vs. Hp	Met	Yhdysvaikutus
Välttämättömät aminohapot $\mu\text{mol/l}$								
Arginiini	39,7	38,9	34,6	40,3	3,80	0,599	0,492	0,366
Fenyylialaniini	25,5	26,4	21,6	26,7	1,64	0,301	0,090	0,220
Histidiini	13,1	12,7	10,0	13,2	0,942	0,178	0,163	0,080
Isoleusiini ¹	0,019	0,020	0,024	0,020	0,002	0,179	0,257	0,139
	(56,8)	(51,0)	(43,3)	(52,3)				
Leusiini	65,8	69,3	60,7	70,5	3,60	0,602	0,083	0,400
Lysiini	53,9	56,4	47,4	54,8	3,07	0,213	0,129	0,436
Metioniini	13,6	15,2	11,3	14,2	0,931	0,100	0,031	0,511
Treoniini	33,3	34,3	25,4	33,7	2,45	0,103	0,076	0,157
Tryptofaani	5,55	5,85	4,30	5,77	0,680	0,335	0,203	0,395
Valiini	61,6	64,1	53,9	63,2	3,92	0,289	0,151	0,400
Σ Haaraketjuiset ²	184	184	158	186	11,3	0,294	0,228	0,237
Σ Välttämättömät	369	374	313	375	22,8	0,242	0,160	0,233
Σ Ei-välttämättömät ³	242	252	182	234	19,1	0,062	0,125	0,291
Σ Aminohapot ⁴	611	626	495	609	39,0	0,109	0,117	0,225
Glukoosi ⁵ , mmol/l	1,09	1,27	1,43	1,19	0,092	0,160	0,741	0,037
	(1,02)	(0,875)	(0,721)	(0,863)				
NEFA ⁶ , mmol/l	-0,009	-0,007	-0,002	-0,006	0,009	0,541	0,902	0,624
BHBA ⁷ , mmol/l	0,281	0,274	0,244	0,291	0,027	0,720	0,463	0,325

¹Käänteisluku-muunnos normaalijaukautuneisuuden saavuttamiseksi. Alkuperäiset arvot suluissa muunnettujen arvojen alapuolella. ²Isoleusiini, Leusiini ja Valiini. ³Alaniini, Asparagiinihappo, Kysteiini, Glutamiinihappo, Glysiini, Prolini, Seriini ja Tyrosiini. ⁴ Σ Välttämättömät + Σ Ei-välttämättömät. ⁵Käänteisluku-muunnos normaalijaukautuneisuuden saavuttamiseksi. ⁶Vapaat rasvahapot. ⁷ β -hydroksivoihappo.

Nurmi-ruokinnassa maitorauhanen eristi välttämättömiä aminohappoja ja aminohappoja yhteensä plasmasta tehokkaammin verrattuna HP-ruokintaan ($p < 0,05$; taulukko 7). Metioniinin eristystehokkuus väheni säilörehun kasvilajista riippumatta, kun lehmille annettiin pötsisuojaattua metioniinia ($p < 0,001$). Metioniinilisä lisäsi maitorauhasen seriinin eristystehokkuutta HP-ruokinnassa selvästi enemmän verrattuna Nurmi-ruokintaan (yhdysvaikutus $p < 0,05$, tuloksia ei esitetty). Histidiinin ja alaniinin (tuloksia ei esitetty) eristys oli tehokkaampaa Nurmi-ruokinnassa verrattuna HP-ruokintaan ($p < 0,05$).

Taulukko 7. Maitorauhasen plasman aineenvaihduntatuotteiden eristystehokkuus

	Koeruokinnat				SEM	Tilastollinen merkitsevyys		
	Nurmi	Nurmi + Met	Härkäpapu	Härkäpapu + Met		Nurmi vs. Hp	Met	Yhdysvaikutus
Välttämättömät aminohapot %								
Arginiini	49,4	42,2	41,9	46,2	4,30	0,647	0,702	0,143
Fenyyialaniini	49,5	49,9	43,9	53,2	3,63	0,755	0,186	0,224
Histidiini	33,0	34,5	25,5	31,3	5,65	0,041	0,150	0,384
Isoleusiini ¹	38,1	38,7	35,4	36,5	1,73	0,161	0,620	0,891
Leusiini	53,4	54,2	45,3	51,8	2,81	0,075	0,206	0,325
Lysiini	59,3	55,4	52,4	56,2	2,56	0,250	0,970	0,156
Metioniini	61,6	30,2	56,7	34,2	3,04	0,887	<0,001	0,169
Treoniini	28,1	28,1	24,1	30,7	2,24	0,711	0,092	0,092
Tryptofaani	16,0	15,9	12,3	16,9	1,77	0,419	0,180	0,163
Valiini	24,9	25,7	20,9	24,9	1,76	0,152	0,154	0,329
Σ Haaraketjuiset ²	1,56	1,56	1,48	1,54	0,031	0,111	0,323	0,234
	(37,3)	(36,2)	(30,7)	(35,7)				
Σ Välttämättömät ³	37,7	36,7	32,8	34,4	1,54	0,030	0,858	0,379
Σ Ei-välttämättömät ⁴	20,6	21,4	15,5	21,4	1,95	0,168	0,081	0,167
Σ Aminohapot ⁵	28,6	28,4	23,3	26,5	1,76	0,041	0,366	0,283
Glukoosi ⁶ %	0,043	0,049	0,055	0,047	0,003	0,190	0,743	0,064
	(26,1)	(23,1)	(18,8)	(22,1)				
NEFA ⁷ %	-25,8	-30,5	-29,2	-25,8	13,2	0,944	0,948	0,677
BHBA ⁸ %	48,6	42,4	42,4	46,0	3,11	0,672	0,689	0,139

¹Kaksi havaintoa poistettu, normaalijaukautuneisuuden saavuttamiseksi. Havainnot poistettiin nurmi- ja härkäpapu + met ruokinnoista, taulukossa esitetty suurin SEM, muiden koeruokintojen SEM saadaan kertomalla taulukoitu SEM luvulla 0,916. ²Isoleusiini, Leusiini ja Valiini. Log₁₀-muunnos. Alkuperäiset arvot suluisa muunnettujen arvojen alapuolella. ³Kaksi havaintoa poistettu. Havainnot poistettiin nurmi- ja härkäpapu + met ruokinnoista, taulukossa esitetty suurin SEM, muiden koeruokintojen SEM saadaan kertomalla taulukoitu SEM luvulla 0,916. ⁴Alaniini, Asparagiinihappo, Kysteiini, Glutamiinihappo, Glysiini, Proliini, Seriini ja Tyrosiini. Yksi havaintoa poistettu HP-ruokinnasta, taulukossa esitetty suurin SEM, muiden koeruokintojen SEM saadaan kertomalla taulukoitu SEM luvulla 0,917. ⁵Σ Välttämättömät + Σ Ei-välttämättömät. Yksi havainto poistettiin nurmi- ja kaksi härkäpapu + met ruokinnoista, taulukossa esitetty suurin SEM, muiden koeruokintojen SEM saadaan kertomalla taulukoitu SEM luvulla 0,831 ja 0,908. ⁶Käänteislukumuunnos. ⁷Vapaat rasvahapot. ⁸β-hydroksivoihappo.

Metioniinin otossa maitorauhaseen ei todettu merkitseviä vaikutuksia säilörehun kasvilajien välillä tai metioniinilisän vaikutuksesta ($p > 0,10$; taulukko 8). Alaniinin otto maitorauhaseen oli suurempaa Nurmi-ruokinnassa verrattuna HP-ruokintaan ($p < 0,05$, tuloksia ei esitetty). Seriinin otto maitorauhaseen lisääntyi metioniinilisän vaikutuksesta HP-ruokinnassa, mutta Nurmi-ruokinnassa otto pysyi samana (yhdysvaikutus $p < 0,05$, tuloksia ei esitetty). Fenyyialaniinin ja treoniinin (yhdysvaikutus $p < 0,05$) sekä suuntaa-antavasti histidiinin (yhdysvaikutus $p < 0,10$) otto maitorauhaseen suureni

HP-ruokinnassa ja pieneni Nurmi-ruokinnassa metioniinilisän vaikutuksesta. Leusiinin otto maitorauhaseen oli suurempaa HP-ruokinnoissa verrattuna Nurmi-ruokintoihin ($p < 0,01$).

Taulukko 8. Plasman aineenvaihduntatuotteiden otto maitorauhaseen

	Koeruokinnat				SEM	Tilastollinen merkitsevyys		
	Nurmi	Nurmi + Met	Härkäpapu	Härkäpapu + Met		Nurmi vs. Hp	Met	Yhdysvaikutus
Välttämättömät aminohapot mmol/vrk								
Arginiini	481	433	488	478	37,0	0,279	0,231	0,433
Fenyyialaniini	306	293	304	309	7,92	0,117	0,331	0,034
Histidiini	156	143	143	152	6,45	0,723	0,758	0,059
Isoleusiini ¹	0,002	0,002	0,002	0,002	<0,001	0,806	0,329	0,145
	(701)	(570)	(616)	(613)				
Leusiini	794	775	862	826	25,3	0,009	0,180	0,679
Lysiini	653	627	674	645	23,9	0,312	0,149	0,928
Metioniini	163	169	158	163	6,67	0,339	0,313	0,938
Treoniini	397	381	355	391	12,8	0,172	0,373	0,032
Tryptofaani	65,6	63,6	63,9	69,8	8,26	0,741	0,779	0,568
Valiini	743	718	764	744	30,4	0,328	0,335	0,923
Σ Haaraketjuiset ²	2239	2064	2243	2183	101	0,378	0,102	0,403
Σ Välttämättömät	4460	4173	4427	4390	171	0,389	0,139	0,247
Σ Ei-välttämättömät ³	2892	2811	2558	2699	147	0,112	0,822	0,416
Σ Aminohapot ⁴	7352	6984	6985	7089	235	0,500	0,497	0,233
Glukoosi mol/vrk	11,9	9,49	10,2	10,2	0,764	0,526	0,134	0,151
NEFA ⁵ mol/vrk	0,262	0,272	0,273	0,269	0,024	0,819	0,873	0,704
	(-0,145)	(-0,102)	(-0,041)	(-0,111)				
BHBA ⁶ mol/vrk	3,45	3,08	3,58	3,41	0,346	0,508	0,436	0,781

¹ Käänteisluku-muunnos normaalijaukautuneisuuden saavuttamiseksi. Alkuperäiset arvot suluissa muunnettujen arvojen alapuolella.

²Isoleusiini, Leusiini ja Valiini. ³Alaniini, Asparagiinihappo, Kystiini, Glutamiinihappo, Glysiini, Proliini, Seriini ja Tyroosiini. ⁴Σ Välttämättömät + Σ Ei-välttämättömät. ⁵Vapaat rasvahapot. +2 ja Log₁₀-muunnos. ⁶β-hydroksivoihappo.

5.4 Maitotuotos ja maidon koostumus

Metioniinilisä vähensi maitotuotosta Nurmi-ruokinnassa, mutta HP-ruokinnassa se ei vaikuttanut maitotuotokseen (yhdysvaikutus $p < 0,05$; taulukko 9). Energiakorjattu maitotuotos väheni metioniinilisän vaikutuksesta nurmipohjaisessa ruokinnassa ja lisääntyi härkäpapupohjaisessa ruokinnassa (yhdysvaikutus $p < 0,05$). Laktoosipitoisuus väheni ja valkuaispitoisuus lisääntyi metioniinilisän myötä riippumatta säilörehun kasvilajista ($p < 0,05$). Rasvapitoisuus lisääntyi suuntaa-antavasti ($p < 0,10$) metioniinia lisättäessä säilörehun kasvilajista riippumatta. Maidon ureapitoisuus oli HP-ruokinnoissa suurempi kuin Nurmi-ruokinnoissa ($p < 0,001$). Ureapitoisuudessa oli myös suuntaa-antava yhdysvaikutus säilörehun kasvilajin ja metioniinilisän välillä ($p < 0,10$). Tämän yhdysvaikutuksen perusteella ureapitoisuus lisääntyi nurmipohjaisessa ruokinnassa metioniinilisän vaikutuksesta, mutta härkäpapupohjaisessa ruokinnassa maidon ureapitoisuus pysyi samana metioniinilisästä huolimatta.

Taulukko 9. Maitotuotos ja maidon koostumus.

	Koeruokinnat				SEM	Tilastollinen merkitsevyys		
	Nurmi	Nurmi + Met	Hp	Hp + Met		Nurmi vs. Hp	Met	Yhdysvaikutus
Tuotos, kg/vrk								
Maito	26,0	24,2	25,2	25,3	1,20	0,770	0,039	0,033
EKM	28,3	26,8	27,4	29,0	1,02	0,338	0,982	0,028
Pitoisuus, g/kg								
Laktoosi	43,9	43,1	43,9	43,3	0,470	0,573	0,005	0,771
Rasva	46,8	47,8	46,6	50,5	1,75	0,322	0,060	0,245
Valkuainen	36,7	37,9	37,2	38,9	1,18	0,160	0,009	0,620
Urea, mg/dl	26,2	28,1	33,8	33,1	1,58	<0.001	0,404	0,083
Tuotos, g/vrk								
Laktoosi	1139	1045	1110	1092	57,6	0,581	0,004	0,034
Rasva	1216	1152	1166	1277	52,4	0,421	0,621	0,077
Valkuainen	953	915	931	969	26,7	0,300	0,982	0,022
Hyväksikäyttö								
EKM, kg/kg ka ¹	0,740 (1,36)	0,788 (1,29)	0,827 (1,23)	0,767 (1,33)	0,025	0,123	0,755	0,017
Maito N/ N saanti	0,291	0,280	0,237	0,254	0,006	<0.001	0,550	0,012

Nurmi = timotei-nurminatasäilörehu, Hp = härkäpapusäilörehun ja timotei-nurminatasäilörehun seos 2:1 kuiva-aineessa, Met = pötsi-suojattu metioniini, SEM = keskiarvon keskivirhe, EKM = Energiakorjattu maitotuotos (Sjaunja ym. 1990), ka = kuiva-aine, N = typpi, ¹ käänteislukumuunnos normaalijakautuneisuuden saavuttamiseksi, alkuperäiset arvot näkyvät sulkeissa muunnettujen alla.

Metioniinilisä vähensi laktoosituotosta Nurmi-ruokinnassa, mutta HP-ruokinnoissa laktoosituotos pysyi samana (yhdysvaikutus $p < 0,05$; taulukko 9). Valkuaistuotos väheni Nurmi-ruokinnassa ja lisääntyi HP-ruokinnassa metioniinilisän vaikutuksesta (yhdysvaikutus $p < 0,05$). Rasvatuotos väheni nurmipohjaisessa ruokinnassa metioniinia lisättäessä ja lisääntyi HP-ruokinnassa metioniinilisän vaikutuksesta suuntaa-antavasti (yhdysvaikutus $p < 0,10$). Kuiva-aineen hyväksikäyttö energiakorjatuksi maidoksi tehostui HP-ruokinnassa ja heikentyi Nurmi-ruokinnassa metioniinilisän vaikutuksesta (yhdysvaikutus $p < 0,05$; taulukko 9). Metioniinilisä tehosti typen hyväksikäyttöä HP-ruokinnassa ja heikensi sitä Nurmi-ruokinnassa (yhdysvaikutus $p < 0,05$). Typen hyväksikäyttö oli numeerisesti Nurmi-ruokinnoissa tehokkaampaa kuin HP-ruokinnoissa.

6 TULOSTEN TARKASTELU

6.1 Rehujen kemiallinen koostumus ja rehuarvot

Härkäpapusäilörehu korjattiin melko aikaisessa kasvuvaiheessa, mikä on pääteltävissä sen pienestä D-arvosta sekä NDF- ja tärkkelyspitoisuudesta. Kuoppalan ym. (2014a) mukaan härkäpapuvehnäsäilörehun D-arvo ja tärkkelyspitoisuus lisääntyvät, kun korjuuta myöhäistetään. Härkäpapusäilörehun kuiva-aine-pitoisuus oli keskimääräinen aikaisempien tutkimusten härkäpapusäilörehujen kuiva-aineisiin verrattuna (239 vs. 203–351 g/kg; Mustafa ja Seguin 2003, Palmio ym. 2016, Baizán ym.

2018). Härkäpapusäilörehun tuhkapitoisuus oli korkea verrattuna myöhemmin korjattuihin Kuoppalan ym. (2014a ja 2014b) tutkimusten härkäpapuvehnärehuihin. Härkäpapusäilörehun raakavalkuaispitoisuus oli melko suuri 180 g/kg ka, vaikka aikaisemmin on todettu suurempiakin raakavalkuaispitoisuuksia (yli 200 g/kg ka) puhtaissa härkäpapusäilörehuissa (Mc Knight ja Mac Leod 1977, Ingalls ym. 1979, Mustafa ja Seguin 2003).

Nurmisäilörehun NDF-pitoisuus oli suuri ja D-arvo pienempi (690–720 vs. 664 g/kg) verrattuna Luonnonvarakeskuksen rehutaulukoiden aikaisin korjattuihin ensimmäisen sadon nurmisäilörehujen arvoihin (Luke 2020). Nurmisäilörehun raakavalkuaispitoisuus oli pienempi kuin rehutaulukoissa ilmoitetut raakavalkuaispitoisuudet aikaisen korjuun ensimmäisen sadon nurmisäilörehuissa (Luke 2020). Nurmisäilörehun D-arvosta, valkuaispitoisuudesta ja NDF-pitoisuudesta voi päätellä sen olleen korjattu myöhäisellä kasvuasteella. Nurmisäilörehu oli todella kuivaa ja näin ollen seosrehuihin lisättiin vettä seosten teon yhteydessä, tällä pyrittiin välttämään väkirehun lajittuminen ruokintakupeissa.

Nurmisäilörehu ei sisällä tärkkelystä (Luke 2020), joten ei ole yllättävää, että härkäpapusäilörehun tärkkelyspitoisuus oli huomattavasti suurempi kuin nurmisäilörehun (47,8 vs. 1,6 g/kg ka). Härkäpapusäilörehun nurmirehua suurempi raakavalkuaispitoisuus oli odotettavissa aikaisempien tutkimusten perusteella (Mc Knight ja Mac Leod 1977, Ingalls ym. 1979, Kuoppala ym. 2014b). Säilörehujen raakavalkuaisen aminohappokoostumukset erosivat toisistaan selkeästi. Härkäpapusäilörehun valkuaisessa oli ainoastaan arginiinia, histidiiniä, asparagiinihappoa ja tyrosiinia enemmän kuin nurmisäilörehun valkuaisessa.

Härkäpavun tiedetään aikaisempien tutkimusten perusteella sisältävän niukasti rikkiptoisia aminohappoja (Lattanzio ym. 1983, Puhakka ym. 2012). Kysteiini ja metioniini ovat rikkiptoisia aminohappoja, ja niitä oli tämän kokeen härkäpapusäilörehun raakavalkuaisessa vähemmän kuin nurmisäilörehussa. Härkäpapusäilörehun raakavalkuaisen aminohappokoostumusta ei löytynyt aikaisemmista tutkimuksista. Härkäpavun siemenen raakavalkuaisen aminohappokoostumukseen verrattuna tämän kokeen härkäpapusäilörehun valkuainen sisälsi vähemmän arginiinia, glutamiinihappoa, histidiiniä, leusiinia ja lysiiniä, mutta enemmän metioniinia (Feedipedia 2014, Lamminen ym. 2019). Nurmisäilörehun raakavalkuaisen välttämättömien aminohappojen pitoisuudet olivat pienempiä kuin Luonnonvarakeskuksen rehutaulukoiden ensimmäisen sadon nurmirehujen välttämättömien aminohappo-

jen pitoisuudet (Luke 2020). Lammisen ym. (2019) tutkimuksen toisen sadon nurmisäilörehun raakavalkuaiseen verrattuna tämän kokeen nurmisäilörehun raakavalkuaisessa oli kuitenkin suuremmat pitoisuudet välttämättömiä aminohappoja.

Mitä suurempi kuiva-ainepitoisuus rehussa on sitä korkeampi pH voi olla ja silti haittamikrobien toimintaa on mahdollista hillitä säilörehussa (Jaakkola ym. 2010). Kuoppalan ym. (2014b) tutkimuksessa härkäpapusäilörehun pH (4,00–4,21 vs. 4,10). Nurmisäilörehun pH oli tavoiteltua korkeampi (4,37), mutta kun huomioidaan nurmisäilörehun suuri kuiva-ainepitoisuus, bakteerien aiheuttama virhehäymisriski pienenee (Jaakkola ym. 2010). Ammoniumtypen osuus kokonaistypestä oli nurmisäilörehussa pienempi kuin härkäpapusäilörehussa (57 vs. 74 g/kg N). AIV-rehun laatunormien mukaan alle 80 g/kg N ammoniakkityppeä sisältävä rehu toimii yleensä ruokinnassa hyvin (Moisio ja Heikonen 1992). Ammoniumtypen pitoisuus härkäpapusäilörehussa oli selkeästi suurempi kuin Kuoppalan ym. (2014b) tutkimuksessa, mutta ei vielä niin suuri, että se välttämättä aiheuttaisi ongelmia ruokinnassa. Nousiainen (2010) mukaan suuri ammoniumtypen määrä (yli 70 g/kg N) viittaa rehuvalkuaisen laadun heikkenemiseen. Tämän perusteella nurmisäilörehun ammoniumtypen osuus kokonaistypestä ei viittaa epäonnistuneeseen säilöntään.

Moision ja Heikosen (1992) mukaan AIV-rehussa on sokereita jäljellä säilönnän jälkeen vähintään 40 g/kg ka, mikäli sen säilöntä on onnistunut. Molempien kokeen säilörehujen käyminen oli sopivan voimakasta sokeripitoisuuksien perusteella (Nousiainen 2010). Kuoppalan ym. (2014b) tutkimuksessa härkäpapusäilörehun sokeripitoisuus lisääntyi, kun rehu korjattiin myöhemmin, minkä perusteella tämän kokeen HP-rehun sokeripitoisuus olisi voinut nousta suuremmaksi, jos korjuuta olisi myöhäistetty.

Härkäpapusäilörehun sekä nurmisäilörehun säilönnällinen laatu oli kohtalainen pH:n, sokeripitoisuuden ja ammoniumtypen pitoisuuden perusteella arvioituna, kun otetaan huomioon niiden verrattain suuret kuiva-ainepitoisuudet. Nurmisäilörehun suuri kuiva-ainepitoisuus on voinut hankaloittaa laakasiiloon tiivistämistä, mikä lisää jälkilämpenemisen riskiä (Jaakkola ym. 2010). Nurmirehussa todettiin jälkilämpenemistä tutkimuksen aikana. Lämpeneminen estettiin lisäämällä seosrehuun propionihappoa 1 l / 1000 kg nurmisäilörehua.

6.2 Syönti ja ravintoaineiden saanti

Kuiva-aineen syönnin on useissa aikaisemmissa tutkimuksissa todettu lisääntyvän tai pysyvän vähintään aikaisemmalla tasolla, kun nurmisäilörehua on korvattu härkäpapu- tai härkäpapuviljasäilörehulla (Mc Knight ja Mac Leod 1977, Ingalls ym. 1979, Lamminen ym. 2015, Palmio ym. 2016, Baizán ym. 2017). Nurmisäilörehun D-arvo oli tässä tutkimuksessa suurempi kuin härkäpapusäilörehun, mikä on hyvin tyypillistä. Tästä erosta huolimatta on yleistä, että syönti ja maitotuotos ovat palkokasvisäilörehuruokinnassa yhtä suuret ja palkokasvinurmi-ruokinnassa jopa suuremmat kuin puhtaassa nurmisäilörehuruokinnassa (Ingalls ym. 1979, Palmio ym. 2016, Baizán ym. 2017). Palmion ym. (2016) tutkimuksessa härkäpapunurmiseoksen (75:25 suhteessa) kuiva-aineen syönti oli myös 1,5 kg suurempi kuin nurmisäilörehuseoksen syönti, vaikka nurmirehu oli D-arvoltaan sulavampaa kuin HP-rehu (687 vs. 646 g/kg ka). Härkäpapusäilörehu vaikuttaa tämän perusteella olevan maittavampaa kuin nurmisäilörehu.

Varvikko ym. (1999) totesivat tutkimuksessaan juoksutusmahainfuusiona annetun metioniinilisän vaikuttavan erillisruokinnassa käyräviivaisesti nurmisäilörehun kuiva-aineen syöntiin. Säilörehun kuiva-aineen syönti oli suurinta 10 g metioniinilisällä ja se väheni 40 g lisällä takaisin tasolle, jolla se oli ilman metioniinilisää (10,6 vs. 11,4 vs. 10,8 kg/vrk). Myös Pattonin (2010) meta-analyysin perusteella kuiva-aineen syönti pieneni hieman metioniinilisän vaikutuksesta. Tässä tutkimuksessa 20 g pötsisuojattu metioniinilisa ei kuitenkaan vaikuttanut kuiva-aineen syöntiin.

Suurempi tärkkelyksen ja raakavalkuaisen saanti HP-ruokinnoissa verrattuna Nurmi-ruokintoihin selittyy suuremmalla kuiva-aineen syönnillä ja näiden ravintoaineiden suuremmilla pitoisuuksilla härkäpapusäilörehussa nurmisäilörehuun verrattuna. Härkäpapurukintojen suurempaa orgaanisen aineen saantia selittää suurempi kuiva-aineen syönti verrattuna Nurmi-ruokintoihin. Orgaanisen aineen *in vitro* -sulavuuden perusteella nurmisäilörehun orgaaninen aine oli sulavampaa kuin härkäpapusäilörehun orgaaninen aine. Nurmisäilörehu sisälsi huomattavasti enemmän NDF:a, joten tästä seurasi suurempi NDF:n saanti Nurmi-ruokinnoissa verrattuna HP-ruokintoihin.

Härkäpapusäilörehun suuremmasta raakavalkuaispitoisuudesta ja suuremmasta kuiva-aineen syönnistä johtuen oli aminohappojen saanti suurempaa HP-ruokinnassa verrattuna Nurmi-ruokintaan. Näin ollen myös metioniinin saanti oli suurempaa HP-ruokinnassa verrattuna Nurmi-ruokintaan. Me-

tioniinilisää annettaessa metioniinin saannit olivat kuitenkin numeerisesti hyvin lähellä toisiaan säilörehun kasvilajista riippumatta (70 vs. 72 g/vrk). Tätä selittää HP-ruokinnan numeerinen kuiva-aineen syönnin pieneneminen metioniinilisän myötä ja nurmisäilörehuvalkuaisen suurempi metioniinipitoisuus. Metioniinilisä ei vaikuttanut tilastollisesti merkitsevästi kuiva-aineen syöntiin tai muiden ravintoaineiden paitsi metioniinin saantiin.

6.3 Plasman aineenvaihduntatuotteet

6.3.1 Metioniini

Metioniinilisän vaikutuksesta valtimoveren plasman metioniinipitoisuus lisääntyi ja tämä tulos on linjassa aikaisempien tutkimuksien kanssa (Varvikko ym. 1999, Berthiaume ym. 2006, Wang ym. 2010, Liang ym. 2019). Nurmisäilörehuruokinnassa plasman metioniinipitoisuus oli suurempi sekä metioniinilisällä että ilman sitä, verrattuna vastaaviin HP-ruokintoihin. Luonnonvarakeskuksen rehu-
taulukoiden mukaan nurmisäilörehujen valkuainen sisältää yli puolet enemmän metioniinia verrattuna härkäpavun siemeneen (Luke 2020) ja härkäpapuvalkuaisen metioniinipitoisuus on pieni (Duc ym. 1999, Halmemies-Beauchet-Filleau ym. 2018). Metioniinin saanti oli kuitenkin suurempaa HP-rehuruokinnassa, joten Nurmi-ruokinnassa plasman suuremmat metioniinipitoisuudet johtuvat luultavasti metioniinin paremmasta ohutsuolisulavuudesta ja/tai metioniinin vähäisemmästä käytöstä kudoksissa verrattuna HP-ruokintaan. Aminohappojen imeytymiseen ohutsuolessa vaikuttaa myös rehuvalkuaisen pötsihajoavuus ja mikrobivalkuaisen muodostus pötsissä. Härkäpavun valkuaisesta suuri osa hajoaa pötsissä (Crépon ym. 2010, Palmio ym. 2016), joten se voi selittää myös osaltaan plasman pienempää metioniinipitoisuutta.

Liang ym. (2019) totesivat 30 g N-asetyyli-L-metioniinilisää (NALM) olevan sopiva keskilaktaatioissa oleville lehmille maissisäilörehuun sekä kaura- ja sinimailasheinään pohjautuvassa ruokinnassa. Heidän tutkimuksessaan plasman metioniinipitoisuus lisääntyi 30 g:n NALM -annoksella (24 g puhdasta metioniinia), mutta ei enää 60 g:n (metioniinia 47 g) annoksella. Varvikon ym. (1999) tutkimuksessa metioniinia infusoitiin juoksutusmahaan 10 g:n välein 40 g:aan saakka nurmisäilörehuruokinnassa ja plasman metioniinipitoisuus lisääntyi lineaarisesti. Heidän tutkimuksessaan kuiva-aineen syönti pieneni käyräviivaisesti, minkä perusteella on mahdollista, että metioniinin suurimmat annokset olivat tarpeettoman suuria. Lapierrén ym. (2007) mukaan maksa poistaa verenkierrosta ylimääräisiä aminohappoja, jotta niiden pitoisuus ei nousisi haitallisen korkeaksi, mikä voi selittää Liangin

ym. (2019) tutkimuksessa todettua plasman metioniinipitoisuuden pienenemistä suurimman NALM-annoksen tapauksessa. Maksassa näitä aminohappoja käytetään esimerkiksi proteiinisynteesissä ja glukoneogeneesissä. Vastakkaiset muutokset veren urea- ja proteiinipitoisuuksissa viittasivat Liangin ym. (2019) mukaan siihen, että matalammilla NALM -annostasoilla (15 ja 30 g) maksassa valmistettiin enemmän proteiineja urean sijaan.

Metioniinin AV-erotus suureni ja maitorauhasen metioniinin eristystehokkuus pieneni metioniinilisän myötä säilörehun kasvilajista riippumatta. Metioniinin otto maitorauhaseen ei kuitenkaan muuttunut merkitsevästi. Useiden aikaisempienkin tutkimusten mukaan metioniinin eristystehokkuus on pienentynyt ja plasman metioniinipitoisuus lisääntynyt metioniinilisän myötä (Guinardin ja Rulquin 1995, Varvikko ym. 1999, Berthiaume ym. 2006). Tutkimuksissa on kuitenkin todettu, ettei maitorauhanen ota metioniinia ylimäärin, vaikka sen pitoisuus plasmassa lisääntyisi. Metioniini päätyy maitorauhasen sijasta muihin kudoksiin (Berthiaume ym. 2006). Guinard ja Rulquin (1995) mukaan lysiinin ottoon vaikuttaa merkittävästi sen pitoisuus valtimoplasmassa ja puolestaan metioniinin ottoon maitorauhasen erittävien solujen aineenvaihdunnan aktiivisuus eli se kuinka paljon maitovalkuaista oikeasti tuotetaan maitorauhasessa. Heidän mukaansa metioniinin käyttö maidon valkuaiseksi oli lähes 100 %. Suuremmasta metioniinin AV-erotuksesta sekä maito- ja valkuaisuotoksesta, voidaan päätellä maitorauhasen ottaneen metioniinia enemmän maidon valkuais synteesiä varten metioniinilisää annettaessa HP-ruokinnassa. Nurmisäilörehuruokinnassa maito- ja valkuaisuotos pienentyi, joten sen tapauksessa valkuais synteesi ei lisääntynyt maitorauhasessa.

6.3.2 Rikkipitoiset aineenvaihduntatuotteet

Useissa aikaisemmissa tutkimuksissa metioniinilisä on lisännyt valtimoplasman rikkipitoisten aminohappojen (Met, Cys) ja tauriinin pitoisuuksia (Titgemeyer ja Merchen 1990, Guinard ja Rulquin 1995, Pisulewski ym. 1996, Blum ym. 1999, Varvikko ym. 1999, Berthiaume ym. 2006). Metioniinin todettiin toimivan lähtöaineena kystiinin ja tauriinin valmistuksessa (Blum ym. 1999). Näiden pitoisuudet valtimoplasmassa lisääntyivät tässäkin kokeessa metioniinilisän vaikutuksesta. Kuten myös Blumin ym. (1999) tutkimuksessa Smartaminella, jossa imeytyvän metioniinin määrä oli yli puolet suurempi (50 g/vrk) viiden päivän ajan heinämaissisäilörehupohjaisessa ruokinnassa. Näin ollen näyttää siltä, että tässä kokeessa runsaasti käytettävissä olevasta metioniinista on valmistettu elimistössä kystiiniä ja tauriinia.

Guinard ja Rulquin (1995) tutkimuksessa valtimoplasman suuri rikkipitoisten aminohappojen pitoisuus ei vaikuttanut maitorauhasen kykyyn hyödyntää näitä aminohappoja. Tässä kokeessa ei tapahtunut muutoksia kystiinin tai tauriinin AV-erotuksissa, maitorauhasen eristystehokkuudessa tai maitorauhasen otossa. Tämän perusteella lisääntyneet plasman pitoisuudet eivät tässäkään tutkimuksessa johtaneet kystiinin tai tauriinin tehokkaampaan käyttöön maitorauhasessa.

Härkäpapusäilörehuruokintojen valtimoplasman kystiinin pienempi pitoisuus verrattuna Nurmi-ruokintoihin oli todennäköisesti seurausta siitä, että palkoviljojen todettiin sisältävän niukasti rikkipitoisia aminohappoja (Puhakka ym. 2012). Lisäksi rikkipitoisen metioniinin johdannaisen tauriinin (Bert-hiaume ym. 2006) pitoisuus lisääntyi enemmän Nurmi-ruokinnassa verrattuna HP-ruokintaan metioniinilisän vaikutuksesta. Kystiini- ja tauriinipitoisuuksiin on vaikuttanut myös se, että nurmisäilörehun raakavalkuainen sisälsi enemmän kysteiiniä ja metioniinia verrattuna härkäpapusäilörehuun.

Pisulewskin ym. (1996) mukaan seriinin vähentyminen plasmassa oli mahdollisesti seurausta sen käytöstä trans-sulfuraation metaboliareitissä, jossa valmistetaan myös metioniinistä kystiiniä. Tässä kokeessa seriinipitoisuus pieneni plasmassa HP-ruokinnassa ja lisääntyi vähän Nurmi-ruokinnassa metioniinilisän vaikutuksesta. Seriinin AV-erotus lisääntyi säilörehun kasvilajista riippumatta, mutta maitorauhasen seriinin eristystehokkuus ja otto lisääntyi vain vähän Nurmi-ruokinnassa, kun HP-ruokinnassa lisäys oli selkeä. Näiden muutosten perusteella HP-ruokinnassa seriiniä käytettiin mahdollisesti enemmän kystiinin valmistuksessa ja siten sen pitoisuus plasmassa väheni. Puolestaan Nurmi-ruokinnan valmiiksi suurempi metioniinipitoisuus plasmassa ilman metioniinilisää saattoi vähentää kystiinin käyttöä trans-sulfuraatiossa.

6.3.3 Glukoosi

Vanhatalo ym. (1999) totesivat glukoosin histidiinin jälkeen seuraavaksi maidontuotantoa rajoittavaksi tekijäksi nurmisäilörehupohjaisessa ruokinnassa (plasman glukoosipitoisuus 3,19 mmol/l). Korhonen ym. (2002) totesivat tutkimuksessaan valtimoplasman glukoosipitoisuuden olleen suurempi, kuin aikaisemmissa heidän tutkimuksissaan. Kuitenkin tässä kokeessa valtimoplasman glukoosipitoisuus Nurmi-ruokinnassa oli ilman metioniinilisää ja sen kanssa vieläkin suurempi verrattuna Korhosen ym. (2002) kontrolliruokinnan tasoon (3,92 ja 3,84 vs. 3,35 mmol/l). Vanhatalo ym. (1999) päättelivät glukoosin rajoittavan maidontuotantoa, koska propionaatin osuus pötsin haihtu-

vista rasvahapoista pieneni ja laktoosipitoisuus maidossa väheni. Tässä tutkielmassa maidon laktoosipitoisuus pieneni merkitsevästi metioniinilisän vaikutuksesta riippumatta säilörehun kasvilajista. Pötsin haihtuvia rasvahappoja ei tähän tutkielmaan selvitetty, joten niiden muutoksiin ei voida ottaa kantaa. Tämän perusteella voi kuitenkin olla mahdollista, että suuremmalla glukoosin saannilla maitotuotosvaste olisi ollut suurempi metioniinilisää annettaessa. Tämä vaatii kuitenkin lisätutkimusta aiheesta.

Aikaisemmin Varvikko ym. (1999) totesivat veren glukoosipitoisuuden AV-erotuksen olevan suurimmillaan 20 g metioniinilisällä, mutta 40 g metioniinilisällä erotus oli saman suuruinen kuin ilman metioniinilisää (0,72 vs. 0,80 vs. 0,70 mmol/l). Tässä kokeessa metioniinilisän vaikutuksesta glukosin valtimoplasmapitoisuus ja AV-erotus pieneni Nurmi-ruokinnassa ja suureni HP-ruokinnassa. Lisäksi maitorauhasen glukoosin eristystehokkuus pieneni suuntaa-antavasti Nurmi-ruokinnassa ja suureni HP-ruokinnassa metioniinilisää annettaessa. Nämä muutokset viittaisivat Nurmi-ruokinnassa pienentyneeseen ja HP-ruokinnassa lisääntyneeseen glukoosin tuotantoon maksassa ja tarpeeseen maitorauhasessa. Maidon laktoosipitoisuus pieneni säilörehun kasvilajista riippumatta metioniinia lisäättäessä, mutta laktoosituotos ei muuttunut HP-ruokinnassa ja pienentyi Nurmi-ruokinnassa. Laktoosituotoksen pieneneminen johti Nurmi-ruokinnassa maitotuotoksen pienenemiseen.

6.3.4 Muut aminohapot

Valtimoplasmassa metioniinin, arginiinin ja lysiinin pitoisuudet lisääntyivät metioniinilisän vaikutuksesta ruokinnan karkearehun kasvilajista riippumatta. Näin ollen myös välttämättömien aminohappojen pitoisuus yhteensä valtimoplasmassa lisääntyi myös merkitsevästi. Aikaisemmin todettiin vastaavasti välttämättömien aminohappojen lineaarinen pitoisuuden lisääntyminen tutkimuksessa, jossa lisättiin histidiiniä juoksutusmahainfuusiona 0–6 g/vrk nurmisäilörehuruokinnassa (Korhonen ym. 2000). Metioniinin valtimoplasman pitoisuus oli Korhosen ym. (2000) tutkimuksessa samaa suuruusluokkaa kuin tässä tutkimuksessa Nurmi-ruokinnassa ilman pötsisuojaattia metioniinilisää. Tässä tutkimuksessa koeruokintojen valtimoveren histidiinipitoisuus oli suurempi kuin Korhosen ym. (2000) kontrolliruokinnassa, mutta suuruusluokalta samaa tasoa kuin heidän 4 g/vrk histidiinilisällä todettu pitoisuus. Varvikon ym. (1999) mukaan lysiinillä on metioniinia merkittävämpi rooli maitorauhasen aminohappometaboliassa. Maitorauhasen lysiinin eristystehokkuus lisääntyi numeerisesti HP-ruokinnassa metioniinilisän myötä ($p > 0,10$). Lysiinin otto maitorauhaseen ei kuitenkaan lisääntynyt.

Berthiaumen ym. (2006) tutkimuksessa alaniinin, asparagiinin, glutamiinin ja seriinin pitoisuudet valtimoplasmassa vähentyivät 32 g/vrk annoksella pötsisuojattua metioniinia, mutta palasivat samalle tasolle kontrolliruokinnan kanssa, kun pötsisuojattua metioniinia annettiin 72 g/vrk. Tutkijat päättelivät tästä, että näitä neljää aminohappoa käytettiin hiilen ja typen kuljettamiseen elimistössä, kun lehmä pyrki säilyttämään maidon tuotannon ja välttämään liiallisen metioniinin haitalliset vaikutukset. Näin ollen metioniinin saanti oli heidän mukaansa puutteellista kontrolliruokinnassa, riittävää 32 g:n metioniini annoksella ja liiallista 72 g:n annoksella. Tässä tutkielmassa tilastollisesti merkitseviä muutoksia plasman pitoisuuksissa oli alaniinin, asparagiinin ja seriinin osalta, mutta ei glutamiinin osalta. Tulokset poikkesivat Berthiaumen ym. (2006) tuloksista. Alaniinin osalta todettiin merkitsevä ero ainoastaan säilörehun kasvilajien välillä, jonka perusteella Nurmi-ruokinnassa plasman alaniinipitoisuus olisi suurempi kuin HP-ruokinnassa. Asparagiinipitoisuus plasmassa lisääntyi metioniinilisän vaikutuksesta ja sen pitoisuudet valtimoplasmassa olivat myös suuremmat Nurmi-ruokinnassa. Seriinipitoisuus lisääntyi Nurmi-ruokinnassa ja vähentyi HP-ruokinnassa metioniinilisän vaikutuksesta. Alaniinipitoisuuskin kuitenkin lisääntyi plasmassa suuntaa-antavasti metioniinilisän myötä Nurmi-ruokinnassa. Lisäksi alaniinin eristystehokkuus ja otto maitorauhaseen oli Nurmi-ruokinnassa tehokkaampaa kuin HP-ruokinnassa. Näiden havaintojen perusteella on mahdollista, että tässä tutkimuksessa Nurmi-ruokinnassa lehmien elimistöt pyrkivät ylläpitämään tuotostasoa ja välttämään liiallisen metioniinin haitallisia vaikutuksia näitä aminohappoja hyödyntämällä.

6.3.5 Vapaat rasvahapot

Tässä tutkielmassa valtimoplasman NEFA-pitoisuudessa ei todettu muutosta metioniinilisän vaikutuksesta, mikä on linjassa Varvikon ym. (1999) tulosten kanssa. Aikaisemmin Pisulewski ym. (1996) tutkimuksessa maissisäilörehupohjaisessa ruokinnassa NEFA-pitoisuus valtimoplasmassa lisääntyi 6 g:n metioniinilisällä (ohutsuoli-infuusio) verrattuna kontrolliin ilman metioniinilisää, mutta vähentyi lineaarisesti metioniinilisän tasoa nostettaessa aina 24 g:aan saakka (NEFA 95,1 vs. 108,7 ja lopulta 59,7 $\mu\text{mol/l}$). Tämän ajateltiin johtuvan joko kehon rasvojen vähentyneestä käytöstä tai maksassa lisääntyneestä NEFA käytöstä. NEFA-pitoisuuden vähentyminen plasmassa yhdistettiin myös lyhyt- ja keskipitkäketjuisten rasvahappojen lisääntymiseen ja tiettyjen pitkäketjuisten rasvahappojen vähentymiseen maitorasvassa. Wang ym. (2010) totesivat plasman NEFA-pitoisuuden vähentyvän metioniinilisän vaikutuksesta ja maitorauhasen NEFA:n oton lisääntyneen. Heidän tutkimuksensa mukaan tästä seurasi maidon rasvapitoisuuden lisäys.

6.3.6 Maidontuotantoa rajoittavat aminohapot

Nurmisäilörehupohjaisessa ruokinnassa histidiinin todettiin olevan ensimmäinen maidontuotantoa rajoittava aminohappo, eikä metioniini tai lysiini ollut seuraavaksi rajoittavin tekijä (Vanhatalo ym. 1999). Tässä tutkimuksessa histidiinin AV-erotus sekä maitorauhasen histidiinin otto väheni suuntaa-antavasti Nurmi-ruokinnassa ja lisääntyi suuntaa-antavasti HP-ruokinnassa. Histidiinin eristystehokkuus oli nurmiruokinnassa suurempi kuin HP-ruokinnassa, mikä on todennäköisesti seurausta histidiinin suuremmasta tarpeesta nurmiruokinnassa.

Metioniinin eristystehokkuudet olivat säilörehun kasvilajista riippumatta suurimmat välttämättömistä aminohapoista ilman metioniinilisää, mikä voi olla seurausta metioniinin puutteesta. Metioniinilisän myötä metioniinin eristystehokkuus pieneni säilörehun kasvilajista riippumatta, tällöin metioniinin tarve täyttyi pienemmällä eristystehokkuudella, kun sitä oli runsaasti tarjolla. Metioniinilisän myötä histidiinin, fenyylialaniinin ja treoniinin otto lisääntyi suuntaa-antavasti HP-ruokinnassa ja vähentyi Nurmi-ruokinnassa, mikä tukee päätelmää lisääntyneestä valkuaissynteestistä HP-ruokinnassa. Nurmisäilörehuruokinnassa näiden välttämättömien aminohappojen tarve väheni maito- ja valkuaistuo-
toksen pienenemisen myötä. Metioniinilisän myötä lysiinin, leusiinin ja fenyylialaniinin eristystehokkuudet suurenevivat numeerisesti HP-ruokinnassa ja olivat suurimmat välttämättömistä aminohapoista. On mahdollista, että jokin näistä aminohapoista oli tässä tapauksessa maitotuotosta rajoittava aminohappo. On todennäköistä, että maitovalkuaisen synteesiä rajoittivat eri aminohapot Nurmi- ja HP-ruokinnoissa. Tämän tutkielman perusteella on kuitenkin mahdoton tehdä selkeää johtopäätöstä, siitä mitkä nämä rajoittavat aminohapot ovat, joten tämä vaatii lisätutkimusta.

6.4 Maitotuotos ja maidon koostumus

6.4.1 Nurmisäilörehun korvaaminen härkäpapusäilörehulla

Härkäpapusäilörehuruokinnassa on aikaisemmissa tutkimuksissa saatu vastaavia maitotuotoksia kuin nurmisäilörehuruokinnassa (Palmio ym. 2016, Baizán ym. 2017) sekä nurmipalkokasvisäilörehuruokinnassa (Mc Knight ja Mac Leod 1977, Ingalls ym. 1979, Bareeba 1980). Lammisen ym. (2015) tutkimuksessa korvattiin 50 % nurmisäilörehusta härkäpavun ja kevätvehnän kokoviljasäilörehulla ja maitotuotos lisääntyi 0,6 kg Nurmi-ruokintaan verrattuna, tulos ei kuitenkaan ollut tilastol-

lisesti merkitsevä (36,1 vs. 35,5 kg/vrk). Härkäpapusäilörehuruokinnassa ei ole kuitenkaan aina saavutettu yhtä suuria maitotuotoksia kuin nurmisäilörehuruokinnassa (32,1 vs. 34,4 kg/vrk; Baizán ym. 2018). Baizánin ym. (2018) tutkimuksessa väkirehutaso oli härkäpapusäilörehuruokinnassa huomattavasti alhaisempi kuin italianraiheinäruokinnassa (35,4 vs. 48,4 % ruokinnan kuiva-aineesta), joka saattoi osaltaan vaikuttaa maitotuotokseen. Tämän lisäksi heidän tutkimuksessaan todettiin maidon rasvapitoisuuden lisääntyneen härkäpapurukinnassa, minkä seurauksena rasvakorjatut maitotuotokset eivät enää eronneet toisistaan tilastollisesti merkitsevästi (30,7 vs. 31,6 kg/vrk). Aikaisempien tutkimusten sekä tässä tutkimuksessa saadun tuloksen perusteella voidaan todeta, että härkäpapusäilöhulla on mahdollista korvata ainakin osittain nurmisäilörehua ilman että maitotuotos heikkenee. Tässä tutkimuksessa maitotuotoksen taso jäi melko matalaksi, mitä selittää toisen neliön koostuminen ensikoista sekä toisen neliön useamman kerran poikineiden lehmien pitkälle edennyt laktaatio kokeen alkaessa (poikimisesta keskimäärin 181 päivää). Tämän lisäksi säilörehujen pienet D-arvot, nurmisäilöhun korjuu myöhäisellä kasvuasteella ja väkirehun maltillinen taso seosrehussa selittävät myös osaltaan matalaa maitotuotostasoa.

6.4.2 Pötsisuojatun metioniinin vaikutus tuotokseen

Pötsisuojatun metioniini (metioniiniannos 27 g/vrk) lisäsi metioniinin määrää plasmassa sekä maito-, rasva- ja valkuaistuotosta Wang'in ym. (2010) tutkimuksessa. Tuoreessa tutkimuksessa kuitenkin todettiin, että metioniinilisä lisäsi maitotuotosta 22 g:n päiväannoksella, mutta ei enää 47 g:n annoksella maissisinimaillassäilörehu pohjaisessa ruokinnassa (Liang ym. 2019). Tämä viittaisi siihen, että vaikutus maitotuotokseen riippuu metioniinilisän tarpeeseen nähden oikeasta annostuksesta. Päätelmää tukee myös se, että Blumin ym. (1999) tutkimuksessa ei saatu suurella (50 g/vrk) metioniinilisäannoksella maitotuotosvastetta, vaan maitotuotos pieneni numeerisesti. Wang ym. (2010) totesivat epätasapainoisen ruokinnan aminohappokoostumuksen voivan aiheuttaa maitotuotoksen vähentymistä ja heikentää typen hyväksikäyttöä. Tämä voi selittää tässä tutkimuksessa saatua maitotuotoksen pienenemistä ja typen hyväksikäytön heikkenemistä metioniinilisän myötä Nurmi-ruokinnassa.

Pattonin (2010) meta-analyysin perusteella sinimailasheinään tai -säilörehuun pohjautuvissa ruokinnoissa maitotuotos lisääntyi pötsisuojatun metioniinin vaikutuksesta ja tämän lisäksi sinimailasruokinnassa maidon rasvapitoisuus vähentyi. Muissa ruokinnoissa (maissi, nurmi) maitotuotos pieneni metioniinilisän vaikutuksesta. Vanhatalon ym. (1999) mukaan maitotuotosta ensimmäiseksi rajoittava aminohappo riippuu perusruokinnan koostumuksesta ja siitä miten paljon mikrobivalkuaista pää-

tyy pötsistä ohutsuoleen. He totesivat mikrobivalkuaisen merkityksen olevan suurempi nurmiruokinnassa verrattuna maissipohjaiseen ruokintaan, jossa pötsissä sulamaton valkuainen on merkittävämpi aminohappojen lähde. Näin ollen mikrobivalkuaisen aminohappokoostumus oli merkityksellisempi nurmiruokinnassa. Mikrobivalkuaisen tutkittiin sisältävän niukasti histidiiniä, metioniinia ja lysiiniä (Fraser ym. 1991). Härkäpavun valkuaisen tiedetään olevan suurelta osin pötsissä nopeasti hajoavaa (Crépon ym. 2010, Palmio ym. 2016) ja siten mikrobivalkuaisen aminohappokoostumus on luultavasti myös HP-ruokinnassa oleellisessa osassa aminohappojen saantia. Näin ollen valmiiksi niukasti metioniinia sisältävän härkäpavun tapauksessa mikrobivalkuaisen niukka metioniinipitoisuus luo ennistä suuremman tarpeen metioniinilisälle härkäpapupohjaisessa ruokinnassa.

Taulukkoon 10 on koottu aikaisempien tutkimusten tuloksia metioniinilisän vaikutuksista maitotuotokseen ja maidon koostumukseen. Metioniinilisä on vaikuttanut positiivisesti maitotuotokseen erityisesti, kun lehmien poikimisesta on kulunut tutkimuksen alkuun mennessä yli 100 vuorokautta (Broderick ym. 2009, Wang ym. 2010, Liang ym. 2019, Zhao ym. 2019). Lehmien ollessa maitotuotoskauden alussa (alle 80 päivää poikimisesta) ei maitotuotos ole lisääntynyt tilastollisesti merkittävästi (Pisulewski ym. 1996, Armentano ym. 1997, Berthiaume ym. 2006, Rulquin ym. 2006). Tämän tutkimuksen lehmistä puolet olivat ensikoita ja keskimäärin vasta 31 vuorokautta poikimisesta, joten aikaisempien tutkimusten perusteella tämä on voinut heikentää metioniinilisän vaikutusta maitotuotokseen.

6.4.3 Maidon valkuainen ja rasva

Maidon valkuaispitoisuuden lisääntyminen metioniinin vaikutuksesta on linjassa aikaisempien tutkimusten kanssa (Pisulewski ym. 1996, Armentano ym. 1997, Berthiaume ym. 2006, Rulquin ym. 2006; taulukko 10). Näin ollen on mahdollista, että metioniini on usein rajoittanut maidon valkuaisynteesiä. Myös Patton (2010) totesi meta-analyysissään valkuaispitoisuuden lisääntyneen useissa tutkimuksissa metioniinilisän vaikutuksesta, mutta hän listaa myös monia tutkimuksia, joissa metioniini ei ole vaikuttanut maidon valkuaispitoisuuteen. Armentanon ym. (1997) tutkimuksen perusteella pötsisuojatulla metioniinilla on mahdollista saavuttaa lisäys maidon valkuaispitoisuuteen, vaikka ruokinnan raakavalkuaispitoisuus (195 g/kg ka) ja maitotuotos (41,3 kg/vrk) ovat melko korkealla tasolla.

Nurmisäilörehuruokinnassa metioniinilisän aiheuttama valkuaisuotoksen pieneneminen selittyy maitotuotoksen pienenemisenä, joka oli todennäköisesti seurausta maitorauhasen epätasapainoisesta

aminohappotarjonnasta ja ylimääräisen metioniinin aiheuttamasta elimistön kuormituksesta. Härkäpapusäilörehuruokinnassa metioniinilisän vaikutuksesta valkuaispitoisuus lisääntyi ja maitotuotos pysyi samana, minkä seurauksena myös valkuaisuotos lisääntyi. Nurmisäilörehuruokinnassa useiden välttämättömien aminohappojen otto maitorauhaseen väheni metioniinilisän myötä, kun puolestaan HP-ruokinnassa niiden otto lisääntyi. Tämä muutos on samansuuntainen, kun valkuaisuotoksen muutos tässä tutkimuksessa, mistä voidaan päätellä välttämättömien aminohappojen suhteiden olleen optimaalisemmat HP-ruokinnassa verrattuna Nurmi-ruokintaan. Aminohappojen eristystehokkuus oli Nurmi-ruokinnassa tehokkaampaa verrattuna HP-ruokintaan, mikä on linjassa sen kanssa, että typen hyväksikäyttö maitovalkuaiseksi oli Nurmi-ruokinnassa HP-ruokintaa tehokkaampaa.

Useissa tutkimuksissa on todettu metioniinilisän lisäävän maidon rasvapitoisuutta ja -tuotosta (Varvikko ym. 1999, Broderick ym. 2009, Wang ym. 2019; taulukko 10). Wangin ym. (2019) tutkimuksessa rasvapitoisuus ei lisääntynyt, kun ruokintaan lisättiin lysiiniä, mutta lisääntyi, kun sekä lysiiniä että metioniinia lisättiin. He arvelivat metioniinin toimineen lähtöaineena koliinin synteesissä, joka edisti maidon rasvapitoisuuden lisääntymistä. Janovick Guretzky ym. (2006) mukaan metioniinistä merkittävä määrä elimistössä kuluu koliinin synteesissä. Koliini on tärkeä tekijä VLDL-lipoproteiinien (very low density lipoprotein) synteesissä maksassa (Janovick Guretzky ym. 2006). Myös Lapierrin ym. (2007) mukaan metioniinilla on tärkeä rooli maksassa VLDL:n (very low density lipoprotein) synteesissä. VLDL puolestaan kuljettaa triglyseridejä maksasta muualle elimistöön (Janovick Guretzky ym. 2006). Näin ollen koliinin puute voi aiheuttaa maksan rasvoittumista ja maitotuotoksen heikkenemistä (Janovick Guretzky ym. 2006).

Varvikon ym. (1999) tutkimuksen tulokset tukevat päätelmää metioniinilisän vaikutuksesta maitorasvan synteesiin. He totesivat tutkimuksessaan maidon rasvapitoisuuden sekä -tuotoksen ja EKM:n lisääntyvän DL-metioniini juoksutusmahainfuusion vaikutuksesta. Heidän mukaansa maidon suurta rasvapitoisuutta ja plasman korkeaa metioniinipitoisuutta voidaan mahdollisesti selittää pitkäketjuisten rasvahappojen määrän lisääntymisen osalta sillä, että Pullenin ym. (1989) mukaan metioniinin puutos mahdollisesti rajoittaisi tiettyjen apoproteiinien muodostusta ja siten lipoproteiinien synteesiä sekä triglyseridien kuljetusta maksasta muihin kudoksiin kuten maitorauhaseen. Joten on mahdollista, että tässä tutkimuksessa maidon rasvapitoisuuden suuntaa-antava lisääntyminen metioniinilisän myötä oli seurausta tehostuneesta metioniinin käytöstä koliinin synteesissä, eikä metioniinin saanti rajoittanut triglyseridien kuljetusta maitorauhaseen.

Vanhatalo ym. (1999) tutkivat histidiinin, metioniinin ja lysiinin juoksutusmaha infuusioiden vaikutuksia lypsylehmiin nurmisäilörehupohjaisessa ruokinnassa. Heidän tutkimuksessaan 6,5 g:n histidiinilisä yhdistettynä 6 g:n metioniinilisään sai aikaan suuremman maidon valkuais- ja rasvapitoisuuden kuin histidiini yhdessä 19 g:n lysiinilisän kanssa. He raportoivat metioniinin lisäävän rasva- ja valkuaispitoisuuksia, kun puolestaan lysiini ei lisännyt pitoisuuksia tasolta, jolla ne olivat jo pelkällä histidiinilisällä. Näin ollen he päättelivät metioniinin olevan lysiiniä oleellisempi rasvojen muodostuksessa ja tämän tutkimuksen tulokset metioniinilisän vaikutuksista maidon rasvapitoisuuteen sekä -tuotokseen tukevat tätä. Tässä tutkimuksessa maidon rasvatuotoksen vähenemistä Nurmi-ruokinnassa selittää maitotuotoksen väheneminen metioniinilisän myötä. Härkäpapusäilörehuruokinnassa rasvatuotoksen lisäys metioniinin myötä on seurausta maidon rasvapitoisuuden lisääntymisestä.

Säilörehun kasvilajien välillä ei ollut tässä tutkimuksessa eroja maidon valkuais- tai rasvapitoisuuksissa. Aikaisemmin on kuitenkin saatu härkäpapusäilörehulla jopa suurempia maidon pitoisuuksia kuin nurmisäilörehulla. Baizán ym. (2018) tutkimuksessa todettiin härkäpapusäilörehuruokinnassa suuremmat maidon valkuais- ja rasvapitoisuudet verrattuna härkäpavun ja italianraiheinäsäilörehun seokseen sekä puhtaaseen italianraiheinäsäilörehuun (valkuainen: 32,9 vs. 30,1 ja 30,6 g/kg, rasva: 37,1 vs. 35,1 ja 34,5 g/kg). Heidän tutkimuksessaan maitotuotoksen pieneneminen härkäpapurukinnassa selittää myös maidon pitoisuuksien eroja, sillä he eivät todenneet valkuais- ja rasvatuotoksissa eroja härkäpapu- ja italianraiheinäsäilörehujen välillä.

Taulukko 10. Metioniinilisän vaikutukset maidontuotantoon aikaisemmissa tutkimuksissa

Karkearehun kasvilaji	Metioniini-valmiste	Päiviä poikimisesta (DIM)	Metioniiniannos, g/vrk *	Maitotuotos ilman metioniinia, kg/vrk	Maitotuotosvaste	Valkuais-pitoisuus, g/kg	Valkuais-tuotos, g/vrk	Rasva-pitoisuus, g/kg	Rasva-tuotos, g/vrk	Viite
Maissi-kaura-sinimailanen	NALM	168 ± 13	12, 22 ja 47	31,5	+0,4, +0,7 ja -0,1					Liang ym. (2019)
Maissi-sinimailanen	RP-Met ¹	110 ± 26	5	28,2	+1,2		+			Zhao ym. (2019)
Maissi-heinä-sinimailanen	Alimet (HMB)	120 ± 7	27	26,5	+2,0		+	+	+ ²	Wang ym. (2010)
Maissi	HMB (H), HMBi (Hi) Smartamine (S)	56	11	31,4	H: +0,4 Hi: +0,1 S: +0,6	Hi: + S: +	Hi: + S: +			Rulquin ym. (2006)
Sinimailanen-maissi	Smartamine	48–66	5, 11 ja 12 + 15 Lys	41,3	+0,1, +0,1 ja +0,4	+	+			Armentano ym. (1997)
Useita lajeja (meta-analyysi)	Smartamine (S) Mepron (M)	S: 102 M: 106	S: 13 M: 18	S: 32,6 M: 34,0	S: - M: +	S: + M: +	S: + M: +	S: - M: -	S: - M: +	Patton (2010)
Heinä-maissi	Smartamine (S) Mepron (M)	keskilaktaatio	50	S: 28,1 M: 28,2	S: -1,0 M: -1,4					Blum ym. (1999)
Maissi-sinimailanen	Mepron	132 ± 45	9	40,4	+1,0		(+)	(+)	+	Broderick ym. (2009)
Nurmi-palko-kasvi-maissi	Mepron	76 ± 1	27 ja 62	E: 27,7 U: 37,4	E: +0,7 ja +1,7 U: -1,4 ja -0,3	E: +				Berthiaume ym. (2006)
Nurmi	His ja Met, juoksutusmahaan	90–120	6,5 His ja 6 + 6,5 His	22,9	+0,7 ja +0,8	+ ³	+	- ja (+ ³)		Vanhatalo ym. (1999)
Nurmi	DL-Met, juoksutusmahaan	110	10, 20, 30 ja 40	24,9	-0,2, +0,4, +0,7 ja +0,4			+	+	Varvikko ym. (1999)
Maissi	DL-Met, ohut-suoleen	28–42	6, 12, 18 tai 24 ja + 10 Lys	37,5 (10 g Lys)	+0,4, -1,2, -0,9 ja -0,4	+	+			Pisulewski ym. (1996)

*ohutsuolessa imeytyvän / puhtaan metioniinin määrä, + = lisääntyi tutkimuksessa metioniinilisän vaikutuksesta, - = vähentyi tutkimuksessa metioniinilisän vaikutuksesta, (+/-) = suuntaa-antava vaikutus, tyhjä solu = metioniinilisä ei vaikuttanut. NALM = N-asetyyli-L-metioniini. HMB = D, L-2-hydroksi-4-metyylibutaanihappo. ¹ käytettyä metioniinivalmistetta ei ilmoitettu. ² ilmoitettu vain rasvaporjatun maitotuotoksen lisääntymisenä. ³ His + Met yhdistelmällä suuremmat pitoisuudet kuin His + Lys yhdistelmällä. E = ensikot, U = useamman kerran poikineet. Lys = lysiinilisä. His = histidiinilisä.

6.4.4 Maidon laktoosi

Aikaisemmin Liang ym. (2019) totesivat laktoosituotoksen lisääntyvän vielä 22 g:n metioniinilisällä, mutta ei enää 47 g:n annoksella. Zhao ym. (2019) tutkimuksessa metioniinilisällä maidon laktoosituotoksessa oli pieni numeerinen lisäys, mutta lisäys oli tilastollisesti merkitsevä vasta kun maissisäilörehuruokintaan lisättiin pötsisuojaattuna neljää aminohappoa. Glukoosi on kirjallisuuden perusteella tärkein laktoosin lähtöaine (Knight ym. 1994). Maitorauhanen hyödyntää suurimman osan märehtijän maksan tuottamasta glukoosista ja suurin osa siitä maitorauhasessa kuluu laktoosin tuotantoon (Knight ym. 1994). Vanhatalo ym. (1999) ovat yhdistäneet laktoosipitoisuuden vähenemisen glukosin puutteelliseen saantiin nurmiruokinnassa. Huhtanen ja Rinne (2007) osoittivat meta-analyysissään maidon laktoosi- ja ureapitoisuuksille vahvan negatiivisen korrelaation, mikä tässä kokeessa toteutuu Nurmi-ruokinnassa, mutta HP-ruokinnassa sekä maidon laktoosi- että ureapitoisuudet pienenevät. Härkäpapusäilörehuruokinnassa metioniinilisä ei kuitenkaan vaikuta laktoosituotokseen tai maitotuotokseen, mutta sen vaikutuksesta glukosin eristystehokkuus lisääntyy suuntaa-antavasti. Tämän perusteella glukosin tarve lisääntyi metioniinilisän myötä HP-ruokinnassa.

6.4.5 Energiakorjattu maitotuotos ja rehun hyväksikäyttö

Energiakorjatun maitotuotoksen lisääntymistä HP-ruokinnan tapauksessa selittää valkuaispitoisuuden lisääntyminen sekä rasvapitoisuuden suuntaa-antava lisääntyminen metioniinilisän myötä. Puolestaan Nurmi-ruokinnassa maitotuotos sekä laktoosipitoisuus vähenivät metioniinilisäyksen myötä, joten tämä näkyy EKM-tuotoksen vähentymisenä, vaikka valkuais- ja rasvapitoisuudet lisääntyivätkin myös Nurmi-ruokinnassa. Varvikon ym. (1999) tutkimuksessa EKM-tuotos lisääntyi nurmisäilörehuruokinnassa 20–40 g:n metioniinilisän vaikutuksesta, mikä on päinvastainen tulos verrattuna tähän tutkimukseen. Tätä voidaan selittää heidän tutkimuksensa kontrolliruokinnan metioniinipitoisuuden sekä maito- ja valkuaisuotostasojen pienuudella verrattuna tähän tutkimukseen.

Rehuvalkuaisen hyväksikäyttö tehostui metioniinilisän vaikutuksesta HP-ruokinnassa ja heikentyi Nurmi-ruokinnassa, jota voidaan selittää härkäpapusäilörehun pienemällä metioniinipitoisuudella. Metioniinilisä vaikutti olevan tarpeellinen HP-ruokinnassa, mutta tarpeeton Nurmi-ruokinnassa, jossa se pienensi maitotuotosta. Härkäpapusäilörehun nurmisäilörehua suurempi raakavalkuaispitoisuus ja härkäpavun valkuaisen suuri pötsihajoavuus (Crépon ym. 2010, Palmio ym. 2016) selittävät rehuvalkuaisen hyväksikäyttöä, joka oli hypoteesin mukaisesti matalampi HP-ruokinnoissa verrattuna

Nurmi-ruokintoihin. Huhtasen ja Hristovin (2009) mukaan ruokinnan raakavalkuaispitoisuus on merkittävin yksittäinen rehutypen hyväksikäyttöön vaikuttava tekijä. Aikaisemman tutkimuksen perusteella härkäpapuvehnäsäilörehuruokinnassa on mahdollista saavuttaa nurmisäilörehuruokintaa vastaava rehuvalkuaisen hyväksikäyttö maitovalkuaiseksi (Lamminen ym. 2015). Heidän tutkimuksensa nurmisäilörehusta korvattiin vain 50 % härkäpapuvehnäsäilörehulla ja sen raakavalkuaispitoisuus oli pienempi kuin tässä kokeessa käytetyn härkäpapusäilörehun (165 vs. 180 g/kg/ka). Tämä voi selittää miksi Lammisen ym. (2015) tutkimuksessa saavutettiin parempi rehuvalkuaisen hyväksikäyttö maitovalkuaiseksi härkäpapuvehnänurmiseoksella verrattuna tämän kokeen HP-ruokintaan (0,291 vs. 0,237). Metioniinilisän on aikaisemminkin todettu tehostavan rehuvalkuaisen hyväksikäyttöä maitovalkuaiseksi (Wang ym. 2010).

Rehuvalkuaisen hyväksikäytön maitovalkuaiseksi heikentyessä todettiin maidon ureapitoisuuden lisääntyvän (Nousiainen ym. 2004). Maidon suurempi ureapitoisuus HP-ruokinnassa verrattuna Nurmi-ruokintaan selittyy HP-ruokinnan korkeammalla raakavalkuaispitoisuudella ja pienemmällä rehuvalkuaisen hyväksikäytöllä maitovalkuaiseksi. Maidon ureapitoisuuden suuntaa-antava lisäys Nurmi-ruokinnassa metioniinilisän vaikutuksesta on seurausta maitotuotoksen pienenemisestä ja rehuvalkuaisen hyväksikäytön heikkenemisestä. Metioniinilisä ei vaikuttanut HP-ruokinnan maidon ureapitoisuuteen, jonka voisi ajatella johtuvan rehuvalkuaisen hyväksikäytön tehostumisesta. Aikaisemmin on pötsisuojatun metioniinin (Mepron) todettu pienentävän maidon ureapitoisuutta heinämaissi -pohjaisessa ruokinnassa (Blum ym. 1999). Nurmisäilörehuruokinnassa todettiin ureapitoisuuden lisäys maidossa lysiiniä lisättäessä, mutta metioniinia lisättäessä ei tapahtunut muutosta ureapitoisuudessa (Varvikko ym. 1999).

Kuiva-aineen hyväksikäytön tehostuminen EKM:ksi HP-ruokinnassa oli seurausta EKM:n lisääntymisestä metioniinilisän myötä. Tätä tukee myös pieni numeerinen pieneneminen kuiva-aineen syönnissä metioniinilisää annettaessa HP-ruokinnassa. Nurmisäilörehuruokinnassa metioniinilisän vaikutus kuiva-aineen hyväksikäyttöön oli negatiivinen. Tämä selittyy EKM pienenemisellä, sillä metioniinilisä ei vaikuttanut edes numeerisesti kuiva-aineen syöntiin Nurmi-ruokinnassa.

7 JOHTOPÄÄTÖKSET

Tässä tutkimuksessa käytetyt säilörehut olivat D-arvojen perusteella melko heikosti sulavia. Nurmi-säilörehu oli suhteellisen myöhäisessä kasvuvaiheessa korjattua. Härkäpapusäilörehu oli melko aikaisessa kasvuvaiheessa korjattua. Härkäpapusäilörehu sisälsi oletetun määrän raakavalkuaista, mutta nurmisäilörehussa sitä oli niukasti. Härkäpapusäilörehu sisälsi enemmän raakavalkuaista ja tärkkelystä verrattuna nurmisäilörehuun. Nurmisäilörehun NDF -pitoisuus oli huomattavasti suurempi kuin härkäpapusäilörehun. Molemmat säilörehut olivat säilönnälliseltä laadultaan kohtalaisia.

Maitotuotostaso jäi tässä tutkimuksessa matalaksi. Tämän tutkielman perusteella voidaan kuitenkin todeta, että nurmisäilörehua on mahdollista korvata ainakin osittain härkäpapusäilörehulla, ilman maitotuotoksen heikkenemistä. On kuitenkin hyvä huomioida, että HP-ruokinnassa maidon ureapitoisuus lisääntyy ja rehuvalkuaisen hyväksikäyttö maitovalkuaiseksi on heikompaa verrattuna Nurmi-ruokintaan. Metioniinilisän vaikutuksesta HP-ruokinnan rehuvalkuaisen hyväksikäyttö tehostuu ja nurmiruokinnassa päinvastoin. Metioniinilisä vaikutti positiivisesti maidon valkuaispitoisuuteen säilörehun kasvilajista riippumatta. Maidon valkuaisuus lisääntyi metioniinin vaikutuksesta HP-ruokinnassa, mutta väheni Nurmi-ruokinnassa.

Hypoteesin vastaisesti metioniinilisä ei vaikuttanut maitotuotokseen HP-ruokinnassa ja Nurmi-ruokinnassa metioniini pienensi maitotuotosta. Energiakorjattu maitotuotos kuitenkin lisääntyi metioniinilisän vaikutuksesta HP-ruokinnassa. Metioniinilisän vaikutus energiakorjattuun maitotuotokseen oli negatiivinen nurmiruokinnassa. Maidon rasvapitoisuus lisääntyi suuntaa-antavasti metioniinilisän myötä. HP-ruokinnassa maidon rasvatuotos lisääntyi suuntaa-antavasti ja nurmiruokinnassa päinvastoin. Näistä tuloksista voidaan päätellä metioniinilisän olleen tarpeeton nurmisäilörehuruokinnassa, mutta hyödyllinen kun ruokinnassa oli runsaasti härkäpapua. Pötsisuojaattu metioniini lisäsi selvästi metioniinin pitoisuutta valtimoplasmassa ja heikensi sen eristystehokkuutta maitorauhaseen säilörehun kasvilajista riippumatta.

Metioniinilisän käytöllä härkäpapusäilörehuruokinnassa voi olla positiivisia vaikutuksia maidon koostumukseen ja rehuvalkuaisen hyväksikäyttöön. Aikaisempien tutkimusten perusteella metioniinilisällä on mahdollista lisätä myös maitotuotosta maitotuotokauden keskivaiheessa. Näin ollen metioniinilisän annostusta, ajoitusta ja vaikutuksia runsaasti härkäpapua sisältävässä ruokinnassa olisi hyvä tutkia lisää, ja sitä mitkä tekijät tällaisessa ruokinnassa rajoittavat maidontuotantoa.

8 KIITOKSET

Lämmin kiitos työni ohjaajille yliopistotutkija Anni Halmemies-Beauchet-Filleaulle ja professori Aila Vanhatalolle sekä Viikin tutkimustilan henkilökunnalle kaikesta avustanne. Kiitos myös perheelleni ja ystäväilleni kannustuksesta koko tutkielmanprojektin aikana.

LÄHTEET

- AOAC. 1995. Official methods of analysis, 16th edition. Association of official analytical chemists, Arlington, VA, USA.
- Armentano, L. E., Bertics, S. J. & Ducharme, G. A. 1997. Response of lactating cows to methionine or methionine plus lysine added to high protein diets based on alfalfa and heated soybeans. *Journal of Dairy Science* 80:1194–1199.
- Baizán, S., Martínez-Fernández, A. & Vicente, F. 2017. Evaluation of faba bean silage as alternative to Italian ryegrass silage to feed of dairy cows. XVII Jornadas sobre Producción Animal, 123–125.
- Baizán, S., Vicente, F., Barhoumi, N., Feito, I., Rodríguez, L. & Martínez-Fernández, A. 2018. Effect of faba bean silage in dairy cow diets on voluntary intake, milk production and composition of milk. *Agraria* 114: 353–367.
- Bareeba, F. B. 1980. Use of pro-sil-treated corn silage and faba bean silage in rations for lactating dairy cows. Department of Animal Science Winnipeg, Manitoba. 263 s.
- Berthiaume, R., Thivierge, M. C., Patton, R. A., Dubreuil, P., Stevenson, M., McBride, B. W., & Lapierre, H. 2006. Effect of ruminally protected methionine on splanchnic metabolism of amino acids in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89:1621–1634.
- Blum, J.W., Bruckmaier, R.M. & Jans, F. 1999. Rumen-protected methionine fed to dairy cows: bioavailability and effects on plasma amino acid pattern and plasma metabolite and insulin concentrations. *Journal of Dairy Science* 82: 1991–1998.
- Boreal 2020. Kontu^{BOR} Valkuaispitoinen härkäpapu. <https://boreal.fi/lajike/harkapapu/kontu/> Boreal Kasvinjalostus Oy. Viitattu 22.4.2020.
- Broderick, G.A., Stevenson, M.J. & Patton, R.A. 2009. Effect of dietary protein concentration and degradability on response to rumen-protected methionine in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92: 2719–2728.
- Cant, J. P., DePeters, E. J. and Baldwin, R. L. 1993. Mammary amino acid utilization in dairy cows fed fat and its relationship to milk protein depression. *J. Dairy Sci.* 76:762–774.
- Crépon, K., Marget, P., Peyronnet, C., Carrouée, B., Arese, P. & Duc, G. 2010. Nutritional value of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for feed and food. *Field crops research* 115: 329–339.
- Duc, G., Marget, P., Esnault, R., Guen, J.L. & Bastianelli, D. 1999. Genetic variability for feeding value of faba bean seeds (*Vicia faba*): Comparative chemical composition of isogenics

- involving zero-tannin and zero-vicine genes. *The Journal of Agricultural Science* 133: 185–196.
- Edmonson, A.J., Lean, I.J., Weaver, L.D., Farver, T. & Webster, G. 1989. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science* 72: 68–78.
- Faulkner, J.S. 1985. A comparison of faba beans and peas as whole-crop forages. *Grass and Forage Science* 40: 161–169.
- Feedipedia 2014. Faba bean (*Vicia faba*), all cultivars. <https://www.feedipedia.org/node/12799> Animal Feed Resources Information System - INRA CIRAD AFZ and FAO. Julkaistu 1.12.2014. Viitattu 22.4.2020.
- Fraser, M.D., Fychan, R. & Jones, R. 2001. The effect of harvest date and inoculation on the yield, fermentation characteristics and feeding value of forage pea and field bean silages. *Grass and Forage Science* 56: 218–230.
- Fraser, D.L., Ørskov, E.R., Whitelaw, F.G. & Franklin, M.F. 1991. Limiting amino acids in dairy cows given casein as the sole source of protein. *Livestock Production Science* 28: 235–252.
- Guinard, J. & Rulquin, H. 1995. Effects of graded amounts of duodenal infusions of methionine on the mammary uptake of major milk precursors in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 78: 2196–2207.
- Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Rinne, M., Lamminen, M., Mapato, C., Ampapon, T., Wanapat, M., & Vanhatalo, A. 2018. Review: Alternative and novel feeds for ruminants: Nutritive value, product quality and environmental aspects. *Animal* 12: 295–309.
- Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Tauriainen, V., Ojala, K., Kokkonen, T., Jaakkola, S. & Vanhatalo, A. 2020. Härkäpavun teollisen prosessoinnin sekä metioniinitäydennyksen vaikutus lypsylehmien maidontuotantoon. Tiivistelmä. Teoksessa: Puhakainen, T. & Jokela, V. (toim.). Suomen maataloustieteellisen seuran tiedote no 37, Maataloustieteen päivät 2020, Esitelmä- ja posteritiivistelmät. <https://journal.fi/smst/issue/view/6119/647> Julkaistu 23.1.2020. Viitattu 15.4.2020.
- Huhtanen, P. & Hristov, A.N. 2009. A meta-analysis of the effects of dietary protein concentration and degradability on milk protein yield and milk N efficiency in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92: 3222–3232.
- Huhtanen, P. & Rinne, M. 2007. Effects of increasing the milk yield of dairy cows on milk composition. *Journal of Animal and Feed Sciences* 16: 42–58.

- Ingalls, J.R., Sharma, H.R., Devlin, T.J., Bareeba, F.B. & Clark, K.W. 1979. Evaluation of whole plant fababean forage in ruminant rations. *Canadian Journal of Animal Science* 59: 291–301.
- Jaakkola, S., Sairanen, A., Nousiainen, J. & Rinne, M. 2010. Säilöntämenetelmien soveltuvuus eri nurmirehutyypeille. Teoksessa: Peltonen, S., Puurunen, T. & Harmoinen, T. (toim.) *Nurmirehujen tuotanto ja käyttö. Tietoa Tuottamaan* 132. ProAgria Keskusten Liitto. Hämeenlinna: Kariston Kirja-paino Oy 2010. s. 87–94.
- Janovick Guretzky, N.A., Carlson, D.B., Garrett, J.E. & Drackley, J.K. 2006. Lipid metabolite profiles and milk production for holstein and jersey cows fed rumen-protected choline during the periparturient period. *Journal of Dairy Science* 89: 188–200.
- Jensen, E.S., Peoples, M.B. & Hauggaard-Nielsen, H. 2010. Faba bean in cropping systems. *Field crops research* 115: 203–216.
- Jiménez-Calderón, J.D., Martínez-Fernández, A., Benaouda, M. & Vicente, F. 2018. A winter intercrop of faba bean and rapeseed for silage as a substitute for Italian ryegrass in rotation with maize. *Archives of Agronomy and Soil Science* 64: 983–993.
- Jonhston, D.J., Theodoridou, K. & Ferris, C.P. 2019. The impact of field bean inclusion level in dairy cow diets on cow performance and nutrient utilization. *Livestock Science* 220: 166–172.
- Kaukovirta-Norja, A., Leinonen, A., Morkkila, M., Wessberg, N. & Niemi, J. 2015. Tiekartta Suomen proteiiniomavaraisuuden parantamiseksi. Teknologian tutkimuskeskus VTT.
- Knight, C.H., France, J. & Beever D.E. 1994. Nutrient metabolism and utilization in the mammary gland. *Livestock Production Science* 39: 129–137.
- Korhonen, M., Vanhatalo, A., Varvikko, T. & Huhtanen, P. 2000. Responses to graded postruminal doses of histidine in dairy cows fed grass silage diets. *Journal of Dairy Science* 83: 2596–2608.
- Kuoppala, K., Lötjönen, T., Saarinen, E., Suomela, R., Hyrkäs, M. & Huuskonen, A. 2014a. Palkokasviviljakasvustojen satoisuus ja rehuarvo. Teoksessa: Huuskonen, A. (toim.). MTT Raportti 175: Edistystä luomutuotantoon – loppuraportti. MTT Jokioinen. s. 28–36
- Kuoppala, K., Rinne, M., Lötjönen, T. & Huuskonen, A. 2014b. Palkokasveja sisältävien kokoviljasäilörehujen rehuarvon tarkentaminen ruokinnan optimoimiseksi. Teoksessa: Huuskonen, A. (toim.). MTT Raportti 175: Edistystä luomutuotantoon – loppuraportti. MTT Jokioinen. s. 37–50.

- Kuoppala, K., Manni, K., Känkänen & H., Rinne, M. 2016. Härkäpapu säilörehun raaka-aineena. Tiivistelmä. Teoksessa: Alakukku, L., Schulman, N., & Puhakainen, T. (toim.). Suomen maataloustieteellisen seuran tiedote no 32, Maataloustieteen päivät 2016, Esitelmä- ja posteritiivistelmät. <http://www.smts.fi/MTP2016/abstracts> Julkaistu 2015. Viitattu 12.4.2020.
- Köpke, U. & Nemecek, T. 2010. Ecological services of faba bean. *Field crops research*. 115: 217–233.
- Laine, A. 2017. Härkäpavun viljely. FutureCrops–Uusia kasvilajeja tuotantoon, tietoa ja elämyksiä kysynnän ja liiketoiminnan tueksi. www.luke.fi/futurecrops Julkaistu 15.3.2017. Viitattu 22.4.2020.
- Lamminen, M., Kokkonen, T., Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Termonen, T., Vanhatalo, A. & Jaakkola, S. 2015. Partial replacement of grass silage with faba bean whole-crop silage in the diet of dairy cows. Teoksessa: Van den Pol–van Dasselaar, A., Aarts, H. F. M., De Vliegher, A., Elgersma, A., Reheul, D., Reijneveld, J.A., Verloop, J. & Hopkins, A. (toim.). *Grassland and forages in high output dairy farming systems 2015*. https://www.europeangrassland.org/fileadmin/documents/Infos/Printed_Matter/Proceedings/EGF2015.pdf Julkaistu 2015. Viitattu 12.4.2020.
- Lamminen, M., Halmemies-Beauchet-Filleau, A., Kokkonen, T., Vanhatalo, A. & Jaakkola, S. 2019. The effect of partial substitution of rapeseed meal and faba beans by *Spirulina platensis* microalgae on milk production, nitrogen utilization, and amino acid metabolism of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 102: 7102–7117.
- Lapierre, H., Lobley, G. E., Quellet, D. R., Doepel, L. & Pacheco, D. A. 2007. Amino acid requirements for lactating dairy cows: Reconciling predictive models and biology. (Cornell Nutrition Conference, Department of Animal Science, Cornell University, Ithaca, NY). s. 39–59.
- Larsen, M., Lund, P., Weisbjerg, M.R. & Hvelplund, T. 2009. Digestion site of starch from cereals and legumes in lactating dairy cows. *Animal Feed Science and Technology* 153: 236–248.
- Liang, S.L., Wei, Z.H., Wu, J.J., Dong, X.L., Liu, J.X. & Wang, D.M. 2019. Effect of N-acetyl-L-methionine supplementation on lactation performance and plasma variables in mid-lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 102: 5182–5190.
- Luke. 2020. Rehutaulukot ja ruokintasuositukset. Luonnonvarakeskus, Jokioinen. <https://portal.mtt.fi/portal/page/portal/Rehutaulukot/Rehutaulukot/laskentaperusteet>. Viitattu 6.3.2020.

- McKnight, D. R. & MacLeod, G. K. 1977. Value of whole plant faba bean silage as the sole forage for lactating cows. *Canadian Journal of Animal Science* 57: 601–603.
- Melicharová, V., Pechová, A., Dvorák, R. & Pavlata, L. 2009. Performance and metabolism of dairy cows fed bean seeds (*Vicia faba*) with different levels of anti-nutritional substances. *Acta Veterinaria Brno* 78: 57–66.
- Moisio, T. & Heikonen, M. 1992. AIV-rehun perusteet. Helsinki: Kirjayhtymä. 170 s.
- Mustafa, A. F. & Seguin, P. 2003. Characteristics and in situ degradability of whole crop faba bean, pea, and soybean silages. *Canadian Journal of Animal Science* 83: 793–799.
- Nousiainen, J., Shingfield, K.J. & Huhtanen, P. 2004. Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. *Journal of Dairy Science* 87: 386–398.
- Nousiainen, J. 2010. Säilörehuanalyysin tulkinta. Teoksessa: Peltonen, S., Puurunen, T. & Harmoinen, T. (toim.) *Nurmirehujen tuotanto ja käyttö. Tietoa Tuottamaan* 132. ProAgria keskusten Liitto. Hämeenlinna: Kariston Kirja-paino Oy 2010. s. 92–93
- Nykänen, A. 2010. Palkokasvit kokoviljasäilörehussa. Teoksessa: Peltonen, S., Puurunen, T. & Harmoinen, T. (toim.) *Nurmirehujen tuotanto ja käyttö. Tietoa Tuottamaan* 132. ProAgria Keskusten Liitto. Hämeenlinna: Kariston Kirja-paino Oy 2010. s. 40–41
- Palmio, A., Sairanen, A., Kuoppala, K. & Rinne, M. 2016. Härkäpapusäilörehu lypsylehmien ruokinnassa. Suomen maataloustieteellisen seuran tiedote nro 33. <https://doi.org/10.33354/smst.75216>. Julkaistu 31.1.2016. Viitattu 9.4.2020.
- Patton, R.A. 2010. Effect of rumen-protected methionine on feed intake, milk production, true milk protein concentration, and true milk protein yield, and the factors that influence these effects: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science* 93: 2105–2118.
- Pennanen, A-M., Ripatti, S., Suhonen, P. & Pakarinen, K. 2016. Härkäpapu, herne, virna ja lupiini säilörehussa – tilatason viljelykokeen tuloksia. Suomen maataloustieteellisen seuran tiedote nro 33. <https://doi.org/10.33354/smst.75216>. Julkaistu 31.1.2016. Viitattu 18.4.2020.
- Pisulewski, P.M., Rulquin, H., Peyraud, J. L. & Verite, R. 1996. Lactational and systemic responses of dairy cows to postruminal infusions of increasing amounts of methionine. *Journal of Dairy Science* 79: 1781–1791
- Puhakka, L., Jaakkola, S & Vanhatalo, A. 2012. Palkoviljat nautojen ruokinnassa. Suomen maataloustieteellisen seuran tiedote nro 28. <https://doi.org/10.33354/smst.75583>. Julkaistu 31.1.2012. Viitattu 10.4.2020.
- Puhakka, L., Jaakkola, S., Simpura, I., Kokkonen, T. & Vanhatalo, A. 2016. Effects of replacing rapeseed meal with fava bean at 2 concentrate crude protein levels on feed intake,

- nutrient digestion, and milk production in cows fed grass silage-based diets. *Journal of Dairy Science*. 99:7993–8006.
- Pullen, D. L., Palmquist, D.L. & Emery, R.S. 1989. Effects on days of lactation and methionine hydroxy analog on incorporation of plasma fatty acids into plasma triglycerides. *Journal of Dairy Science* 72:49–58.
- Rulquin, H., Graulet, B., Delaby, L. & Robert, J.C. 2006. Effect of different forms of methionine on lactational performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89: 4387–4394.
- Salo, M.-L. ja Salmi, M. 1968. Determination of starch by the amyloglucosidase method. *The Journal of Scientific Agricultural Society of Finland* 40: 38–45.
- Salo, M.-L. 1965. Determination of carbohydrate fractions in animal foods and faeces. *Acta Agraria Fennica* 105: 1–102.
- Schwab, C. G. 1996. Rumen-protected amino acids for dairy cattle: progress towards determining lysine and methionine requirements. *Animal Feed Science and Technology* 59: 87–101.
- Seppälä, A., Kuusito, K., Mäki, M. & Rinne, M. 2014. Säilöntäaineiden soveltuvuus härkäpapuvehnä- ja hernevehnäkokoviljojen säilöntään. Teoksessa: Huuskonen, A. (toim.). MTT Raportti 175: Edistystä luomutuotantoon – loppuraportti. MTT Jokioinen. s. 51–72.
- Seppälä, A., Rinne, M. & Huuskonen, A. 2019. Efficacy of different additives in ensiling faba bean and field pea based whole crop silages. *Agricultural and food science* 28: 165–175.
- Sjaunja, L.O., Baevre, L., Junkarinen, L., Pedersen, J. & Setälä, J. 1990. A Nordic proposal for an energy corrected milk (ECM) formula. Teoksessa: Gaillon, P. & Chabert, Y. (toim). *Performance Recording of Animals: State of the Art– 1990*. PUDOC, Wageningen, Alankomaat: EAAP Publication no. 50: 156–157.
- Somogyi, M. 1945. A new reagent for the determination of sugars. *Journal of Biological Chemistry* 160: 61–68.
- Stoltz, E. & Nadeau, E. 2014. Effects of intercropping on yield, weed incidence, forage quality and soil residual N in organically grown forage maize (*Zea mays* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.). *Field Crops Research* 169: 21–29.
- Thompson, R. & Taylor, H. 1982. Prospects for *Vicia faba* L. in Northern Europe. *Outlook on Agriculture* 11: 127–133.
- Titgemeyer, E. C. & Merchen, N. R. Sulfur-containing amino acid requirement of rapidly growing steers. *Journal of Animal Science* 68: 2075–83.

- Tufarelli, V., Khan, R.U. & Laudadio, V. 2012. Evaluating the suitability of field beans as a substitute for soybean meal in early-lactating dairy cow: Production and metabolic responses. *Animal Science Journal* 83: 136–140.
- Vanhatalo, A., Huhtanen, P., Toivonen, V. & Varvikko, T. 1999. Response of dairy cows fed grass silage diets to abomasal infusions of histidine alone or in combinations with methionine and lysine. *Journal of Dairy Science* 82: 2674–2685.
- Vanhatalo, A., Kokkonen, T. & Huhtanen, P. 2020. Aminohappojen saannin merkitys tuotosvasteen ennustamisessa. Tiivistelmä. Teoksessa: Puhakainen, T. & Jokela, V. (toim.). Suomen maataloustieteellisen seuran tiedote no 37, Maataloustieteen päivät 2020, Esitelmä- ja posteritiivistelmät. <https://journal.fi/smst/issue/view/6119/647> Julkaistu 23.1.2020. Viitattu 15.4.2020.
- Van Keulen, J. & Young, B. A. 1977. Evaluation of insoluble ash as a natural marker in ruminant digestibility studies. *Journal of Animal Science* 44: 282–287.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583–3597.
- Varvikko, T., Vanhatalo, A., Jalava, T. & Huhtanen, P. 1999. Lactation and metabolic responses to graded abomasal doses of methionine and lysine in cows fed grass silage diets. *Journal of Dairy Science* 82: 2659–2673.
- Virkajärvi, P., Rinne, M., Mononen, J., Niskanen, O., Järvenranta, K. & Sairanen A. 2015. Dairy production systems in Finland. Teoksessa: Van den Pol–van Dasselaar, A., Aarts, H. F. M., De Vlieghe, A., Elgersma, A., Reheul, D., Reijneveld, J.A., Verloop, J. & Hopkins, A. (toim.). Grassland and forages in high output dairy farming systems 2015. https://www.europeangrassland.org/fileadmin/documents/Infos/Printed_Matter/Proceedings/EGF2015.pdf. Julkaistu 2015. Viitattu 5.3.2020.
- Wang, C., Liu, H. Y., Wang, Y. M., Yang, Z. Q., Liu, J. X., Wu, Y. M., Yan, T. & Ye, H. W. 2010. Effects of dietary supplementation of methionine and lysine on milk production and nitrogen utilization in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 93: 3661–3670.
- Watson, C.A., Reckling, M., Preissel, S., Bachinger, J., Bergkvist, G., Kuhlman, T., Lindström, K., Nemecek, T., Topp, C.F.E., Vanhatalo, A., Zander, P., Murphy–Bokern, D. & Stoddard, F.L. 2017. Grain legume production and use in european agricultural systems. *Advances in Agronomy* 144: 235–303.

- Xu, S., Harrison, J. H., Chalupa, W., Sniffen, C., Julien, W., Sato, H., Fujieda, T., Watanabe, K., Ueda, T. and Suzuki, H. 1998. The effect of ruminal bypass lysine and methionine on milk yield and composition of lactating cows. *Journal of Dairy Science* 81: 1062–1077.
- Zhao, K., Liu, W., Lin, X.Y., Hu, Z.Y., Yan, Z.G., Wang, Y., Shi, K.R., Liu, G.M. & Wang, Z.H. 2019. Effects of rumen-protected methionine and other essential amino acid supplementation on milk and milk component yields in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 102: 7936–7947.